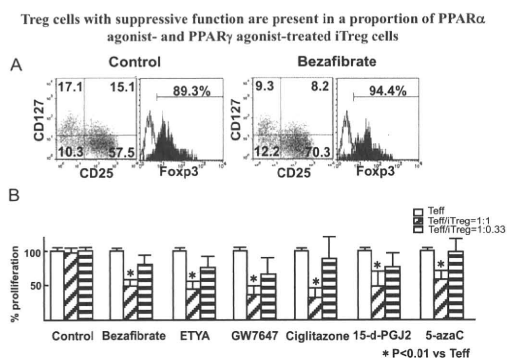


機能的には、TGF- $\beta$  のみで誘導したコントロール iTreg 細胞は抑制機能がないが、PPAR アゴニスト投与群では、5種類とも抑制機能があり、PPAR アゴニストは抑制機能を持つ iTreg 細胞を誘導することが明らかになった (図 2)。また、3種類の PPAR $\alpha$  と 2種類 PPAR $\gamma$  では抑制機能に差は認められなかった。

図 2 PPAR アゴニストで誘導した iTreg 細胞は抑制機能を持つ



3) Foxp3 の発現に重要な役割を演ずるプロモーター領域および CNS3 領域のメチル化状態について検討した。nTreg 細胞では、両領域はほとんど脱メチル化されており、一方、ナイーブ T細胞と TGF- $\beta$  のみで誘導したコントロール iTreg 細胞は、ほとんどメチル化された状態であったが、PPAR アゴニスト投与群は有意に脱メチル化されていた (図 3, 4)。

4) 次に、DNA メチル化の維持や安定に重要な働きを示す DNMT の発現に

ついて検討した。3種類すべての DNMT1,3a,3b の発現は、PPAR アゴニスト投与群では著しく低下した (図 5)。

図 3 PPAR アゴニスト投与によって Foxp3 プロモーター領域は有意に脱メチル化される

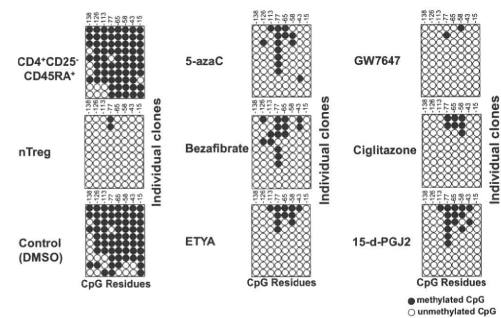


図 4 PPAR アゴニスト投与によって Foxp3 遺伝子のイントロン 1 内に存在する CNS3 領域は有意に脱メチル化される

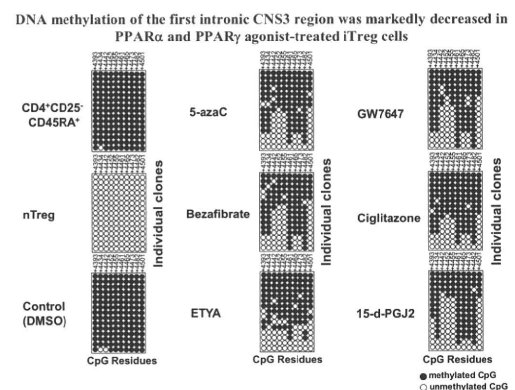
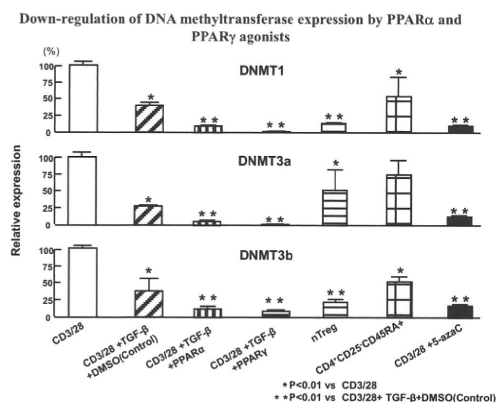
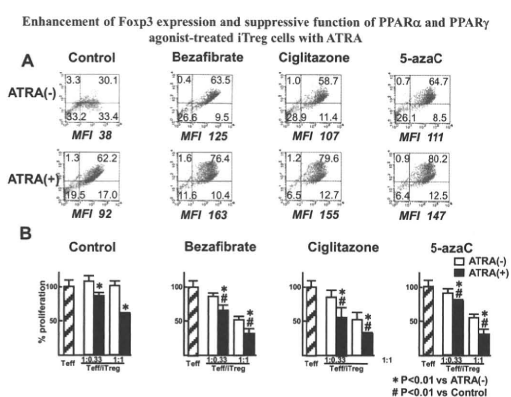


図5 PPAR アゴニストは TGF- $\beta$ と協調して CD4 陽性 T 細胞の DNA methyltransferases の発現をほぼ完全に抑制する



5) TSA あるいは ATRA と PPAR アゴニストを併用すると、相乗効果にて iTreg 細胞の抑制機能が増強することが明らかになった (図6)。

図6 ATRA と PPAR アゴニストは相乗的に iTreg 細胞の誘導を亢進させる



6) nTreg 細胞と iTreg 細胞に PPAR アゴニストを投与しても、TGF- $\beta$  と IL-10 の産生増強は認められなかった。

## D. 考察

TCR シグナルと TGF- $\beta$ により、ナイーブ T 細胞から誘導されたヒト iTreg 細胞は、マウスとは異なって抑制機能を持たない。その機序については十分解明されていないが、最近 Foxp3 遺伝子のエピジェネティックの制御、特に DNA メチレーションと関連していることが、注目されてきた。Foxp3 遺伝子の発現を制御している領域として、4 か所報告されている。それらは、プロモーター領域 (-600bp から -1bp)、CNS3 (+4393bp から +4506bp)、CNS2(+2177bp から +2198bp)、上流のエンハンサー領域 (-5786bp から -5558bp) 内にある CpG リッチ領域である。これら 4 領域のうち、特に重要なのは前二者で、PPAR アゴニストはこの 2 領域の脱メチル化を促進した。また、PPAR アゴニストには、樹状細胞の成熟を抑制したりする作用もあり、我々の結果も含めて、PPAR アゴニストは、免疫反応に抑制的に働くようである。

## E. 結論

ヒトのナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞を TGF- $\beta$  で誘導した iTreg 細胞は抑制機能を持たないが、PPAR $\alpha$  および  $\gamma$  アゴニストを添加した iTreg 細胞は抑制機能を持つようになった。この抑制機能の獲得は、TGF- $\beta$  と協調して PPAR アゴニストが DNMT 発現を抑制することによって、Foxp3 遺伝子プロモーターおよび CNS3 領域の脱メチル化が促進され、Foxp3 の発現が維持されるこ

とによる。Treg 細胞の機能の増強が報告されている TSA や ATRA と併用すると PPAR アゴニストは更に iTreg 細胞の抑制機能を亢進させた。これらを用いて、ANCA 特異的 Treg 細胞の作成が可能になるかもしれない。これらの結果が血管炎などの自己免疫疾患の治療に寄与することが期待される。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

1. Lei J., Hasegawa H, Matsumoto T, Yasukawa M. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma agonists together with TGF-beta convert human CD4+CD25- T cells into functional Foxp3+ regulatory T cells. *J. Immunol.* 185: 7186-7198, 2010.
2. Murakami Y, Tanimoto K, Fujiwara H, An J, Suemori K, Ochi T, Hasegawa H, Yasukawa M. Human herpesvirus 6 infection impairs Toll-like receptor signaling. *Virology*. 510:7:91, 2010.
3. Nakatani K, Yoshimoto S, Iwano M, Asai O, Samejima K, Sakan H, Terada M, Hasegawa H, Nose M, Saito Y. Fractalkine expression and CD16+ monocyte accumulation in glomerular lesions: association with their severity and diversity in lupus models. *Am J Physiol Renal Physiol.* 299: F207-216, 2010.

##### 学会発表

1. Hasegawa H, Lei J, Matsumoto T,

Yasukawa M. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  and  $\gamma$  agonists together with TGF- $\beta$  convert human CD4+CD25- T cells into functional Foxp3+ regulatory T cells. 74<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology Nov 9, 2010, Atlanta, USA.

2. Hasegawa H, Lei J, Matsumoto T, Yasukawa M, Miyazaki T, Nose M. CXCL16 antagonist ameliorates the progression of vasculitis in McH5/lpr mice. 74<sup>th</sup> Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology Nov 10, 2010, Atlanta, USA.
3. 長谷川均、松本卓也、金磊、宮崎龍彦、安川正貴、能勢真人。血管炎好発系 McH5/lpr マウスの血管炎に対する CXCL16 アンタゴニストの抑制効果。第 54 回日本リウマチ学会総会。神戸。2010 年 4 月 23 日。
4. 金磊、長谷川均、松本卓也、河野政志、安川正貴。PPAR $\alpha$ および $\gamma$ アゴニストによるヒト制御性T細胞への分化誘導機序。第 54 回日本リウマチ学会総会。神戸。2010 年 4 月 23 日。

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
該当なし。
2. 実用新案登録  
該当なし

MPO-ANCA 関連血管炎患者における自己抗原 MPO の翻訳後修飾の検討

加藤 智啓 聖マリアンナ医科大学 生化学講座 教授

研究要旨

顕微鏡的多発血管炎等で出現する MPO-ANCA の産生機序として対応抗原である MPO の翻訳後修飾の変化がある可能性を考え、これを二次元ウエスタンブロット法 (2DE-WB 法) 等のプロテオミクス手法で検討した。最初に行った 2DE-WB 法に適した MPO 抽出法を確立するための抽出液組成の検討では、高濃度の界面活性剤と塩を含んだ酢酸緩衝液を用いた場合に MPO が分解されずに抽出されることが判明した。2DE パネル上 MPO 長鎖は pI8-11 の範囲に、MPO 短鎖は pI4.9-6.5 の範囲に、等電点の異なる複数のスポット群として検出された。次に行った MPO-ANCA 陽性患者と健常者との間の MPO の比較では、健常者群に比べ MPO-ANCA 陽性患者群でより等電点の高い領域 (pI10-10.5) の MPO 長鎖のスポットが増加している傾向が見られた。この等電点の違いは翻訳後修飾の違いによると考えられることから MPO-ANCA 陽性患者では健常者とは異なった翻訳後修飾をもつ MPO が存在すると考えられる。

A. 研究目的

血管炎症候群において、顕微鏡的多発血管炎 (MPA) ・アレルギー性肉芽腫性血管炎 (AGA) ・ウェゲナー肉芽腫症 (WG) では、好中球細胞質に対する自己抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA) が効率的に認められ、ANCA 関連血管炎と総称される。特に MPA ではミエロペルオキシダーゼ (MPO) に対する抗体 (MPO-ANCA) が特徴的に認められ、疾患標識抗体としての意義を有する。しかしながら、MPO-ANCA の産生機序が MPA の病因病態とどう結びついているかは不明である。従来、一般に自己抗体産生機序として、対応抗原の修飾、交差反応、あるいは免疫担当分子の異常など諸説あるが、ヒト疾患において産生機序の確定した自己抗体はほとんどなく、ANCA についても例外でない。上記産生機序のうち、対応抗原の修飾は古くから提唱されていたが、近年、関節リウマチにおいてタンパク質のシトルリン化が亢進していることなどが判明し、自己抗原化との関連が注目されている。また、ごく最近、我々は抗 RNP 抗体の対応抗原である U1-snRNP68k の翻訳後修飾プロファイルを質量分析計と二次元ウエスタンブロット法 (2DE-WB 法) を用いて解析し、抗 RNP 抗体が出現する疾患では特徴的な修飾変化が起こっている

ことを見出した。このことから、MPO についても、MPO-ANCA 関連血管炎では修飾変化が起こっている可能性があると考え、本研究ではこれを検討した。その際、MPO は通常の 2DE に用いる抽出液では容易に分解されるため、MPO を 2DE-WB で解析するための抽出条件の最適化を行った後に、MPO-ANCA 陽性患者と健常者における MPO の翻訳後修飾プロファイルの比較を行った。

B. 研究方法

3種類の抽出液、すなわち高濃度の変性剤 (7M Urea, 2M Thiourea) と界面活性剤 (4% CHAPS) を含む 25mM の Tris-HCl 緩衝液 (pH8.5) (以下 A 液)、高濃度の界面活性剤 (4% CHAPS) を含む 25 mM の酢酸緩衝液 (pH4.5) (以下 B 液)、高濃度の界面活性剤 (4% CHAPS) と高濃度の塩を含む 25 mM の酢酸緩衝液 (pH4.5) (以下 C 液) を用いて好中球から蛋白質を抽出し、MPO の検出を試みた。検出された蛋白質を SDS-PAGE もしくは 2DE で展開後、抗体を用いて MPO を検出し定量した。MPO の抽出効率が最も良かった抽出液を用いて 2DE-WB 解析を行い、MPO-ANCA 陽性患者における翻訳後修飾変化を検討した。

なお本研究は所属大学の生命倫理審査委員会

の承認を得て行われている。

### C. 研究結果

各溶液で抽出されたMPOの二次元WBでの比較では、2DE に通常用いられる A 液を用いた場合、MPO 長鎖が分解され、より低分子量の複数のバンドとして検出された。一方、B 液と C 液では MPO 長鎖は分解されず、収量も多かった。次に、B 液と C 液で抽出された MPO を 2DE-WB 法で解析すると、MPO 長鎖は pI8-11 の範囲に、MPO 短鎖は pI4.9-6.5 の範囲に等電点の異なる複数のスポット群として検出され、MPO が生体内で複雑な翻訳後修飾を受けていることが示唆された。検出スポット数は C 液による方が多く、C 液による MPO の抽出が翻訳後修飾の解析に適していることが明らかとなった。

次に、MPO-ANCA 陽性患者 5 例 (MPA3 例、AGA1 例、WG1 例)、および、年齢と性別を合わせた健康者 5 例で、上記 C 液を用いて好中球 MPO を抽出し、2DE-WB 法により翻訳後修飾プロファイルと比較した。その結果、MPO 短鎖においては、患者-健康者間で等電点の違いは見られなかったが、MPO 長鎖については、MPO-ANCA 陽性患者 5 例中 3 例において、等電点の高い領域 (pI10-10.5) の MPO スポットが顕著に増加していることが判明した。この等電点の違いは MPO-ANCA 陽性患者における翻訳後修飾の変化を示しているものと考えられた。

以上、好中球から抽出した MPO を、二次元ウエスタンブロット法により検出および定量し、その等電点および分子量を測定することで、MPO の翻訳後修飾を解析する方法を確立し報告した。本法により、MPO-ANCA 陽性患者において健康人とは異なる翻訳後修飾が存在することが示された。今後質量分析等を用い、今回検出された特異的修飾がなにかを同定することが、MPO - ANCA 産生機序の解明につながると期待される。

### D. 健康危機情報

なし。

### E. 研究発表

論文発表

1. Ando T, Nagai K, Chikada M, Okamoto K, Kurokawa MS, Kobayashi T, **Kato T**,

Makuuchi H. Proteomic analyses of aortic wall in patients with abdominal aortic aneurysm. J Cardiovasc Surg. in press.

2. Karasawa R, Yudoh K, Ozaki S, **Kato T**. Anti-endothelial cell antibodies (AECA) in patients with systemic vasculitis: our research using proteomics. Expert Opin Biol Ther. 2011;11(1):77-87.
3. Koitabashi K, Okamoto K, Arito M, Sato T, Nagai K, Kurokawa MS, Suematsu N, Yasuda T, Kimura K, **Kato T**. Micro-Sieving: Isolation of Whole Glomeruli from a Single Renal Needle Biopsy Sample. Nephron. Clinical practice.2010;117:c225-c229.
4. Karasawa R, Kurokawa MS, Yudoh K, Masuko K, Ozaki S, **Kato T**. Peroxiredoxin 2 is a novel autoantigen for anti-endothelial cell antibodies in systemic vasculitis. Clin Exp Immunol. 2010;161(3):495-470.
5. Ooka S, Nakano H, Matsuda T, Okamoto K, Suematsu N, Kurokawa MS, Ohtani-Kaneko R, Masuko K, Ozaki S, **Kato T**. Proteomic surveillance of autoantigens in patients with Behcet's disease by a proteomic approach. Microbiol Immunol.2010;54(6):354-361.
6. Fukasawa M, Okamoto K, Nakamura M, Mikami K, Shimada S, Tanaka Y, Nagai K, Arito M, Kurokawa MS, Masuko K, Suematsu N, Koizuka I, **Kato T**. Proteomic analysis of the rat cerebellar flocculus during vestibular compensation. J Vestib Res.2010;19(3-4):83-94.
7. Xiang Y, Kurokawa MS, Kanke M, Takakuwa Y, **Kato T**. Peptidomics: identification of pathogenic and marker peptides. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) .2010;615: 259-271.
8. Masuko K, Murata M, Yudoh K, Shimizu H, Beppu M, Nakamura H,

**Kato T.** Prostaglandin E2 regulates the expression of connective tissue growth factor(CTGF/CCN2)in human osteoarthritic chondrocytes via the EP4 receptor. BMC Res Notes.2010;3(5).

9. Hatsugai M, Kurokawa MS, Kouro T, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Ito F, **Kato T.** Protein profiles of peripheral blood mononuclear cells are useful for differential diagnosis of ulcerative colitis from Crohn's disease. J Gastroenterol.2010;45(5):488-500.

## 2. 学会発表

### <海外>

1. Yoshioka T, Kurokawa MS, Sato T, Nagai K, Arito M, Suematsu N, Okamoto K, Suzuki N, Kato T. Comprehensive Analysis of Protein Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells from patients with Behcet's Disease. HUPO 2010, 2010/09/19-2010/09/23, オーストラリア・シドニー
2. Noguchi Y, Kurokawa M, Okuse C, Nagai K, Arito M, Sato T, Suematsu N, Okamoto K, Itoh F, Kato T. Prediction of the Effect of Pegylated Interferon Alpha and Ribavirin Therapy by Serum Peptidomics in Patients with Chronic Hepatitis C. HUPO 2010, 2010/09/19-2010/09/23, オーストラリア・シドニー
3. Nagai K, Kurokawa MS, Okamoto K, Uchida T, Takakuwa Y, Ooka S, Arito M, Satoh T, Suematsu N, Kato T. Analysis of Disease-Specific Post-Translational Modifications on a U1 Small Nuclear Ribonucleoprotein 68k Subunit, a Major Antigen for Anti-RNP Autoantibodies. HUPO 2010, 2010/09/19-2010/09/23, オーストラリア・シドニー
4. Arito M, Nagai K, Takakuwa Y, Ohoka M, Kurokawa M, Okamoto K, Masuko K, Suematsu N, Kato T. Acetyl-Proteomics for the Investigation of Pathological

Molecules in Rheumatoid Arthritis. HUPO 2010, 2010/09/19-2010/09/23, オーストラリア・シドニー

5. Noguchi M, Kurokawa M.S, Utagawa I, Nagai K, Arito M, Sato T, Suematsu N, Okamoto K, Yamaguchi N, Kato T. Comprehensive Analysis of Serum Peptides in Patients with Alzheimer's Disease. HUPO 2010, 2010/09/19-2010/09/23, オーストラリア・シドニー
6. Ooka Seido, Nakano H, Matsuda T, Okamoto K, Suematsu N, Kurokawa SM, Ohtani-Kaneko R, Masuko K, Ozaki S, Kato T. Long-term survival of 188 Japanese patients with adult-onset inflammatory myopathy; a retrospective study from a single institute. 14th International Congress of Immunology. 2010/8/23 神戸
7. Takakuwa Y, Kurokawa MS, Ooka S, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Ozaki S, Kato T. Comprehensive Analyses of Serum Peptides in Microscopic Polyangiitis. American College of Rheumatology. 71th scientific meeting, 2009. 2009/10/17-2009/10/21, アメリカ

### <国内>

1. 野口 陽平, 黒川 真奈絵, 奥瀬 千晃, 松本 伸行, 松永 光太郎, 永井 宏平, 有戸 光美, 佐藤 利行, 末松 直也, 岡本 一起, 伊東 文生, 加藤 智啓  
Prediction of the effect of pegylated interferon alpha and ribavirin therapy by serum peptidomics in patients with chronic hepatitis C. 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日(火)~12月10日(金) 神戸ポートアイランド
2. 黒川 真奈絵, 吉岡 拓也, 佐藤 利行, 永井 宏平, 有戸 光美, 末松 直也, 岡本 一起, 鈴木 登, 加藤 智啓  
ペーチェット病患者末梢血単核球における発現蛋白の網羅的検討

- 第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
3. 岡本 一起, 三井 寛之, 末松 直也, 黒川 真奈絵, 有戸 光美, 永井 宏平, 佐藤 利行, 遊道 和雄, 加藤 智啓  
グルコシルチコイドレセプター・コアクティベーター (MTI-II) による抗炎症作用  
第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会。2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
  4. 三井 寛之, 岡本 一起, 末松 直也, 黒川 真奈絵, 有戸 光美, 永井 宏平, 佐藤 利行, 遊道 和雄, 別府 諸兄, 加藤 智啓  
新規の核内レセプター・コアクティベーター (MTI-II) タンパク質の細胞内への導入  
第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会。2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
  5. 有戸 光美, 松尾 光祐, 黒川 真奈絵, 永井 宏平, 増子 佳世, 岡本 一起, 末松 直也, 加藤 智啓  
関節リウマチ関連分子アネキシン VII (Anx7)の機能解析  
第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
  6. 佐藤 利行, 有戸 光美, 永井 宏平, 黒川 真奈絵, 岡本 一起, 末松 直也, 加藤 智啓  
関節リウマチ特異的に糖鎖構造変異を有する糖タンパク質の探索  
第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
  7. 永井 宏平, 黒川 真奈絵, 岡本 一起, 内田 貞輔, 高桑 由希子, 大岡 正道, 有戸 光美, 佐藤 利行, 末松 直也, 加藤 智啓  
自己抗原 U1-small nuclear ribonucleoprotein 68k subunit における疾患特異的翻訳後修飾型型の解析  
第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
  8. 小坂橋 賢一郎, 岡本 一起, 有戸 光美, 佐藤 利行, 永井 宏平, 黒川 真奈絵, 末松 直也, 安田 隆, 木村 健二郎, 加藤 智啓  
腎生検1検体から単離した糸球体抽出タンパク質の2次元電気泳動~糸球体腎炎研究への応用~  
第33回日本分子生物学会年会 第83回日本生化学会大会 合同大会 2010年12月7日(火)~12月10日(金)神戸ポートアイランド
  9. 野口美和, 黒川真奈絵, 宇田川至, 永井宏平, 有戸光美, 佐藤利行, 末松直也, 岡本一起, 山口登, 加藤智啓  
アルツハイマー病に関与する血清ペプチドの探索
  10. 日本プロテオーム機構第8回大会(日本プロテオーム学会2010)/第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
  11. 永井宏平, 黒川真奈絵, 岡本一起, 内田貞輔, 高桑由希子, 大岡正道, 有戸光美, 佐藤利行, 末松直也, 加藤智啓  
自己抗原蛋白質 U1-small nuclear ribonucleoprotein 68k subunit における疾患特異的翻訳後修飾の解析  
日本プロテオーム機構第8回大会(日本プロテオーム学会2010)/第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
  12. 高桑由希子, 黒川真奈絵, 大岡正道, 永井宏平, 有戸光美, 佐藤利行, 末松直也,

- 岡本一起、永渕裕子、湯村和子、山縣邦弘、山田秀裕、熊谷俊一、石津明洋、須賀万智、尾崎承一、加藤智啓  
顕微鏡的多発血管炎患者血清ペプチドの網羅的探索  
日本プロテオーム機構第8回大会（日本プロテオーム学会2010）／第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
13. 野口陽平、黒川真奈絵、奥瀬千晃、松本伸行、松永光太郎、永井宏平、有戸光美、佐藤利行、末松直也、岡本一起、伊東文生、加藤智啓  
血清ペプチドプロファイルによる、C型慢性肝炎のペグインターフェロン・リハビリ併用療法の効果予測  
日本プロテオーム機構第8回大会（日本プロテオーム学会2010）／第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
14. 小坂橋賢一郎、岡本一起、有戸光美、佐藤利行、永井宏平、黒川真奈絵、末松直也、安田隆、木村健二郎、加藤智啓  
腎生検検体からの糸球体の単離と、その抽出蛋白質の2次元電気泳動  
日本プロテオーム機構第8回大会（日本プロテオーム学会2010）／第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
15. 吉岡拓也、黒川真奈絵、佐藤利行、永井宏平、有戸光美、末松直也、岡本一起、鈴木登、加藤智啓  
ベーチェット病患者末梢血単核球における発現蛋白の網羅的検討  
日本プロテオーム機構第8回大会（日本プロテオーム学会2010）／第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
16. 有戸光美、永井宏平、高桑由希子、大岡正道、黒川真奈絵、増子佳世、岡本一起、末松直也、加藤智啓  
「アセチル化」プロテオミクスによる関節リウマチ（RA）関連分子の探索  
日本プロテオーム機構第8回大会（日本プロテオーム学会2010）／第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
17. 加藤智啓、永井宏平、有戸光美、佐藤利行、黒川真奈絵、末松直也、岡本一起  
リウマチ性疾患における蛋白質翻訳後修飾  
日本プロテオーム機構第8回大会（日本プロテオーム学会2010）／第7回日本臨床プロテオーム研究会、  
2010/7/26-2010/7/27、舞浜 東京ベイホテル東急
18. 増子佳世、村田三奈子、遊道和雄、別府諸兄、中村 洋、加藤智啓  
ヒト関節軟骨細胞におけるCTGF/CCN2のプロスタグランジンによる制御  
第54回日本リウマチ学会総会・学術集会／第19回国際リウマチ学会  
2010/4/22-2010/4/25、神戸ポートピアホテル
- F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
- H. その他  
本研究は、以下の医師・研究者の協力を得て行われた。内田貞輔\*、永井宏平\*、黒川真奈絵\*、佐藤利行\*、有戸光美\*、岡本一起\*、末松直也\*、尾崎承一\*\*、大岡正道\*\*、高桑由希子\*、遊道和雄\*\*\*。（\*聖マリアンナ医科大学 疾患プロテオーム・分子病態治療学、\*\*同大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科学、\*\*\*同大学 難治性疾患制御学）



厚生科学研究費補助金(特定疾患対策研究事業)

分担研究平成22年度報告書

## 皮膚血管炎・血管障害のスペクトラムと臨床・病理所見

「皮膚症状からみた血管炎診断の手引き」作成 (平成22年度研究報告)

研究分担者 岩月啓氏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学分野

研究分担者 勝岡憲生 北里大学医学部皮膚科教授

**研究要旨** 血管炎の診断において皮膚病変は重要な診断の糸口になり、その病理組織所見は決定的な診断情報を提供する。われわれは、皮膚血管炎の皮膚所見を収集して、血管炎分類に準拠して分類したアトラス集を編集することを本研究班3年間の研究課題とした。血管炎の診断糸口になる皮膚病変を収集し、同時に、厚労省研究班の診断基準、重症度基準と治療指針を組み入れて、一般診療の手引きとなるアトラス集「皮膚症状からみた血管炎診断の手引き」を編纂した。

共同研究者

川上民浩 聖マリアンナ医大皮膚科

古川福実 和歌山県立医科大学皮膚科

片山治子 岡山済生会病院皮膚科

妹尾明美 三豊総合病院皮膚科

### A. 研究目的

血管炎症候群の分類には幾多の変遷があるが、Chapel-Hill分類は国際的コンセンサスを得た分類である[1-3]。血管炎の診断にあたっては、血管炎分類や診療ガイドラインとともに、診断の手引が必要とされている。皮膚病変の臨床像とその病理組織所見は、血管炎診断における重要な情報を提供する。われわれは、国際的新分類および厚労省研究班に準拠して、一般診療において役立つ「皮膚血管炎アトラス集」を作成することを本研究班の到達目標に設定した。

### B. 研究方法

血管炎症例の臨床像と病理組織の収集は、研究分担者および研究協力者が所属する岡山大学病院とその関連病院、北里大学病院、聖マリアンナ医科大学病院と和歌山県立医科大学にて実施した。原発性血管炎と、症候性血管炎や他の血管障害の症例を集積した。

### C. 研究結果

#### 1. タイトルと装丁

書名は、「皮膚症状からみた血管炎診断の手引き」として、金原出版にて必要部数を作成する。平成23年3月発行予定。

#### 2. アトラス集構成

第I部は国際分類に準拠した典型例の臨床と病理組織所見を中心とした診療のアトラスとした(図1)。総論として、血管炎の分類、皮膚症状、疫学、病院、全身・臓器症状、合併症、血液・尿検査、画像診断、免疫学的検査、病理診断、治療の章を設けた。各論では、高安動脈炎(図2)、巨細胞性動脈炎、結節性多発動脈炎、Wegener肉芽腫症、Churg-Strauss症候群、顕微鏡的多発血管炎、Henoch-Schoenlein紫斑病、クリオグロブリン血症、蕁麻疹様血管炎、リベド血管症、抗リン脂質抗体症候群、薬剤性血管炎、感染症関連血管炎、抗ガンマグロブリン血症性紫斑などを取り上げた。加えて、臨床において重要な鑑別疾患についても記載した。

第II部は、診断に苦慮したり、特異な経過をとった血管炎または血管障害の症例報告約30編で構成した。この症例は過去数年にわたって「医薬の門」に掲載してきた症例であり、今回のアトラス集編纂にあたり著作権を編集者に移譲していただき、再編集の上、CD版として本編に付けた。

#### D. 考察

総論では血管炎診療の概要を網羅的に解説した。各論では、国際分類および厚労省診断基準に準拠して皮膚所見と病理所見を掲載し、解説した。本アトラス集が、一般診療医にとって、血管炎症候群・血管病変の診療手引きとして活用されるように、構成と内容を充実させた。

#### E. 結論

皮膚血管炎アトラス集作成のコンセプト、構成と進捗状況について報告した。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Aochi S, Tsuji K, Sakaguchi M, Huh N, Tsuda T, Yamanishi K, Komine M, Iwatsuki K. Markedly elevated serum levels of calcium-binding S100A8/A9 proteins in psoriatic arthritis are due to activated monocytes/macrophages. *J Am Acad Dermatol*, in press. (査読有)
2. Yamamoto T, Ikeda K, Sasaoka S, Yamasaki O, Fujimoto W, Aoyama Y, Iwatsuki K. Human leukocyte antigen genotypes and antibody profiles associated with familial pemphigus in Japanese. *J Dermatol*, in press. (査読有)
3. Fujita A, Hamada T, Iwatsuki K. A retrospective analysis of 133 patients with cutaneous lymphomas from a single Japanese medical center between 1995 and 2008. *J Dermatol*, in press. (査読有)
4. Suzuki D, Tsuji K, Yamamoto T, Fujii K, Iwatsuki K. Production of proinflammatory cytokines without invocation of cytotoxic effects by an Epstein-Barr virus-infected natural killer cell line established from a patient with hypersensitivity to mosquito bites. *Exp Hematol* 2010; 38: 933-44. (査読有)
5. Suzuki R, Suzumiya J, Yamaguchi M,

Nakamura S, Kameoka J, Kojima H, Abe M, Kinoshita T, Yoshino T, Iwatsuki K, Kagami Y, Tsuzuki T, Kurokawa M, Ito K, Kawa K, Oshima K. NK-cell Tumor Study Group. Prognostic factors for mature natural killer (NK) cell neoplasms: aggressive NK cell leukemia and extranodal NK cell lymphoma, nasal type. *Ann Oncol* 2010; 21: 1032-40. (査読有)

6. Nakanishi G, Shirai M, Kato T, Fujii N, Fujimoto N, Tanaka T, Shirafuji Y, Suzuki N, Otsuka M, Asagoe K, Iwatsuki K, Tanaka R, Fujimoto W, Hanawa F, Shimada S, Nakagawa Y, Tanioka M. Detection of COL1A1-PDGFB fusion transcripts in dermatofibrosarcoma protuberans. *Eur J Dermatol* 2010; 20: 528-9. (査読有)

7. Shirafuji Y, Maeda Y, Iwatsuki K. Cold agglutinin-induced acrocyanosis in a patient with subclinical chronic lymphocytic leukemia: a beneficial response to rituximab. *Eur J Dermatol* 2010; 20: 394-6. (査読有)

8. Yamamoto T, Takata-Michigami M, Hisamatsu Y, Yamamoto T, Hamada T, Fujii K, Fujimoto W, Taneichi K, Aoyama Y, Iwatsuki K. A prospective analysis of anti-desmoglein antibody profiles in patients with rheumatoid arthritis treated with thiol compounds. *J Dermatol Sci* 2010; 59: 170-5. (査読有)

9. Iwatsuki K. Histiocytoses. In: *Skin Cancer-A World-wide Perspective*. ed. Dummer R, Pittelkow M, Iwatsuki K, et al. Springer, Heidelberg, in press. (査読有)

##### 学会発表

1. Iwatsuki K. The mystery of latent Epstein-Barr virus infections: friends or foes? The 62<sup>nd</sup> Annual Spring Meeting of the Korean Dermatological Association. Gyeongju, April 22, 2010.

#### H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

なし.

## I. 引用文献

1. Lotti T, Ghersetich I, Comacchi C, et al. Cutaneous small-vessel vasculitis. *J Am Acad Derm* 1998;39(5):667-87.
2. Jennete JC, Falk RJ, Andrassy K, et al. Nomenclature of systemic vasculitides: Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum* 1994;37:187-92.
3. Watts RA, Lane SE, Bentham G, et al. Epidemiology of systemic vasculitis: A ten-year study in the United Kingdom. *Arthritis Rheum* 2000;43:422-7.

ページ見本

目次 皮膚症状からみた血管炎診断の手引き	
序文 00	
第1部 本編	
総論	
<血管炎診療の概要>	
1 血管炎の分類 (佐田重典) 000	
2 血管炎の皮膚症状 (川上長寿) 000	
3 血管炎の疫学 (川上長寿) 000	
4 血管炎の病因 (川上長寿) 000	
5 血管炎の全身・臓器別症状 (佐田重典) 000	
6 血管炎の合併症 (沢田孝之) 000	
7 血管炎の血液、尿検査 (新井 達) 000	
8 血管炎の画像診断 (沢田孝之) 000	
9 血管炎の免疫学的検査 (沢田孝之) 000	
10 血管炎の病理組織診断 (川上長寿) 000	
11 血管炎の治療 (藤月晋氏) 000	
各論	
<大血管の血管炎>	
1 高安動脈炎 (藤原光孝) 000	
2 巨細胞性動脈炎 (新山克明) 000	
<中血管の血管炎>	
3-1 結節性多発動脈炎 (藤原光孝) 000	
-2 皮膚型結節性多発動脈炎 (藤原光孝) 000	
4 川崎病 (小児急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群) (新山孝子) 000	
<小血管の血管炎>	
5 Wegener 肉芽腫 (Wegener's granulomatosis) (藤月晋氏) 000	
6 Churg-Strauss 症候群 (アレルギー性肉芽腫性血管炎) (川上長寿) 000	
7 顕微鏡的多発血管炎 (microscopic polyangiitis) (川上長寿) 000	
8 Henoch-Schönlein 紫斑病 (藤原光孝) 000	
9 クリオグロブリン血症 (長谷川 勉) 000	
<その他の血管障害>	
10 尋常性皮膚血管炎 (新井 達) 000	
11 リベド血管症 (長谷川 勉) 000	
12 抗リン脂質抗体症候群 (APS) (小寺雅也) 000	
13 薬毒性血管炎 (白藤宜紀) 000	
14 感染症関連血管炎・血管病変 (新山克明) 000	
15 高ガンマグロブリン血症性紫斑 (小寺雅也) 000	
<鑑別疾患>	
16 主な鑑別疾患	
1) 膠原病に伴う免疫性血管炎 (川上長寿) 000	
2) 末梢動脈疾患 (PAD) (川上長寿) 000	
3) Buerger 病 (閉塞性血栓性血管炎) (川上長寿) 000	
4) Blue toe syndrome (川上長寿) 000	
5) Calciphylaxis (川上長寿) 000	
6) Cold agglutinin disease (寒冷凝集血症) (川上長寿) 000	
7) Mondor 病 (川上長寿) 000	
8) 皮下の血栓性静脈炎 (川上長寿) 000	
9) 劇症型紫斑 purpura fulminans (藤月晋氏) 000	
10) Osler 結節/Janeway 斑 (藤月晋氏) 000	
11) 血栓性微小血管障害 thrombotic microangiopathy (藤月晋氏) 000	
第2部 (別冊) 付録CD	
(症例集) 皮膚血管炎と血管障害 000	
文 献 000	
索 引 000	

ページ見本

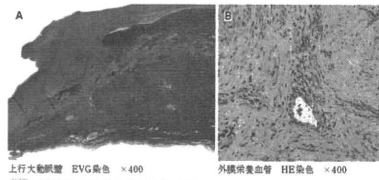


図1 上行大動脈炎 EVG染色 ×400  
 外膜中膜血管壁 H&E染色 ×400  
 (鑑) 病理所見 (上行大動脈炎 37歳女性)  
 A中膜弾性繊維の虫食い状断裂  
 B外膜中膜血管壁。軽度の組織浸潤

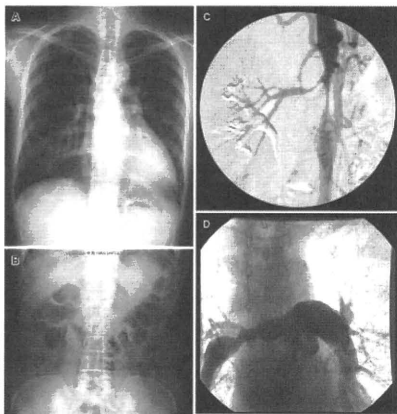


図2 単純X線と血管造影  
 A胸腔単純X線：大動脈弓の石灰化 (34歳女性)  
 B腹部単純X線：腹動大動脈の石灰化 (65歳女性)  
 C腹部大動脈造影と右腎動脈造影 (24歳女性)  
 D肺動脈造影 (肺動脈造影) (50歳女性)

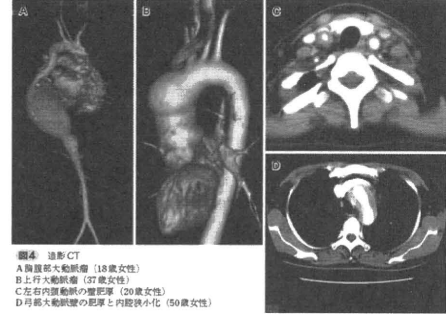


図3 造影CT  
 A胸腔大動脈瘤 (18歳女性)  
 B上行大動脈瘤 (37歳女性)  
 C左右内腔動脈の肥厚 (20歳女性)  
 D弓部大動脈瘤の肥厚と内腔狭小化 (50歳女性)

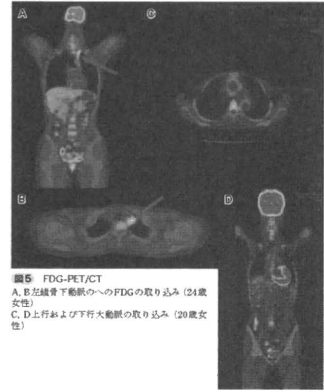


図4 FDG-PET/CT  
 A, B左縦骨下動脈へのFDGの取り込み (24歳女性)  
 C, D上行および下行大動脈の取り込み (20歳女性)

ANCA 関連血管炎関連遺伝子に関する研究

研究分担者 土屋 尚之 筑波大学大学院人間総合科学研究科 教授

研究要旨

近年の大規模な疾患関連遺伝子解析研究により、自己免疫性リウマチ性疾患に共通の遺伝因子が多数存在することが明らかになった。われわれは前年度までに、全身性エリテマトーデス(SLE)、関節リウマチ(RA)、全身性強皮症(SSc)と関連する *BLK*, *STAT4*, *IRF5* 遺伝子が ANCA 関連血管炎と関連する可能性を示唆する知見を報告した。今年度、新たな共同研究グループの協力をうけてサンプルサイズをふやし、顕微鏡的多発血管炎(MPA) 99例、Wegener 肉芽腫症(WG)18例、Churg-Strauss 症候群(CSS)10例を含む血管炎 140例および健常対照群 511例を対象に検討した。MPAでは、*BLK* 領域 rs13277113A/A 遺伝子型( $P=0.035$ , オッズ比[OR] 1.59)、*STAT4* rs7574865T/T 遺伝子型( $P=0.053$ , OR 1.78)の有意な増加あるいはその傾向が、WGでは、*IRF5* rs2280714A/Aの増加傾向( $P=0.076$ , OR 2.35)が、MPO-ANCA 陽性群では *BLK* rs13277113A/A( $P=0.023$ , OR 1.62)、*STAT4* rs7574865T/T( $P=0.0095$ , OR 2.06)の有意な増加が検出された。関連あるいはその傾向が見出された遺伝子型は、いずれも SLE, RA, SSc に対するリスク遺伝子型と同じであることから、これらの疾患群に共通の病態形成パスウェイが存在することが強く示唆された。

A. 研究目的

近年、*PTPN22*, *IRF5*, *STAT4* など、複数のリウマチ性疾患、自己免疫疾患に共通する疾患感受性遺伝子が予想以上に多いことが明らかになってきた。

われわれはこれまでに、ヨーロッパ系集団において見出された全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus, SLE)関連遺伝子である *BLK*, SLE および関節リウマチ(rheumatoid arthritis, RA)関連遺伝子である *STAT4*, *IRF5* が、日本人においてもこれらの疾患と関連すること(Kawasaki et al., 2008, Ito et al., 2009, Ito et al., 2010)、これらすべてが、全身性強皮症(systemic sclerosis, SSc)とも関連すること(Ito et al., 2009, 2010; Tsuchiya et al., 2009)を報告してきた。*BLK* は B 細胞、T 細胞などに発現し、機能が十分解明されていない Src family kinase である B lymphoid tyrosine kinase をコードする。*BLK* 上流に位置する SNP rs13277113A/A 遺伝子型が SLE, RA, SSc に関連するが、この遺伝子型は、*BLK* 発現低下と関連する。*STAT4* (signal transducer and activator of

transcription 4) は IL-12 シグナル、I 型インターフェロニンシグナルで活性化される転写因子で、インターフェロニン $\gamma$  発現や Th1 分化を誘導する。SLE, RA, SSc と関連する遺伝子型は、イントロンに存在する SNP rs7574865T/T であるが、その分子機構は確立していない。*IRF5*(interferon regulatory factor 5)は、toll-like receptor シグナルで活性化する転写因子で、I 型インターフェロン、炎症性サイトカイン発現を誘導する。*IRF5* には多数の機能的変化を伴う多型が存在し、各種免疫疾患において、さまざまな多型部位の関連が報告されている。

以上の背景に基づき、われわれは、*BLK*, *STAT4*, *IRF5* が ANCA 関連血管炎とも関連する可能性を考えた。前年度までに、顕微鏡的多発血管炎(MPA) 50例を対象とした研究により、*BLK* 上流に位置する rs13277113 に関連を示唆する知見を見出したが、本年度は、共同研究体制を強化し、サンプルサイズを増やして検討した。

B. 研究方法

顕微鏡的多発血管炎(MPA) 99 例、Wegener 肉芽腫症(WG) 18 例、Churg-Strauss 症候群(CSS) 10 例、その他の血管炎(結節性多発動脈炎、急性進行性糸球体腎炎、分類不能血管炎) 13 例、健常対照群 511 例を対象として、いずれも日本人集団における全身性自己免疫疾患との関連が確立している *BLK* 上流に位置する rs13277113、*STAT4* の intron に位置する rs7574865、*IRF5* 下流に位置し、*IRF5* 発現量と関連する rs2280714 の関連研究を施行した。患者群 140 例中、MPO-ANCA データが得られたものが 123 例で、109 例(MPA 90 例、CSS9 例、WG5 例、その他 5 例)が陽性であった。

患者試料は、平成 11~13 年度厚生労働省難治性血管炎に関する調査研究班、平成 21 年度厚生労働省抗好中球細胞質抗体関連血管炎患者の genomic DNA 収集に関する研究班(「MPO-ANCA 関連血管炎に関する重症度別治療プロトコルの有用性を明らかにする前向きコホート研究(JMAAV)」および「抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連血管炎の寛解導入治療の現状とその有効性と安全性に関する観察研究(RemIT-JAV)」登録者を対象)、および国立病院機構相模原病院臨床研究センターにて収集された。

(倫理面への配慮)

平成 11~13 年度の難治性血管炎に関する調査研究班において多施設共同研究により収集され、連結不可能匿名化された形で保管されていた試料は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号)に則り、「遺伝子研究の同意を得た既収集匿名検体(A群試料)」として使用する研究計画を筑波大学大学院人間総合科学研究科医の倫理委員会に諮り、承認を受けた上で解析に用いられた。

平成 21 年度厚生労働省「抗好中球細胞質抗体関連血管炎患者の genomic DNA 収集に関する研究」班、国立病院機構相模原病院において収集された試料および健常対照群については、筑波大学大学院人

間総合科学医の倫理委員会および試料収集施設における倫理委員会の承認を受け、ドナーのインフォームド・コンセントを得て解析された。

### C. 研究結果

*BLK* rs13277113 については、A/A 遺伝子型が、MPA において有意に増加していた( $P=0.035$ , OR 1.59, 95% 信頼区間 [CI] 1.03-2.45)。症例数が少なく、統計学的解析には耐えないものの、CSS にも A/A 遺伝子型の増加傾向が認められ、MPA, CSS の大部分が含まれる MPO-ANCA 陽性群も有意な増加が認められた( $P=0.023$ , OR 1.62, 95%CI 1.07-2.45)。一方、WG では増加傾向は認められなかった(表 1)。

*STAT4* rs7574865 については、MPA における T/T 遺伝子型の増加傾向が認められた( $P=0.053$ , OR 1.78, 95%CI 0.99-3.22)。CSS においても増加傾向が認められ、MPO-ANCA 陽性群では有意差に到達した( $P=0.0095$ , OR 2.06, 95%CI 1.19-3.55)。やはり WG では増加傾向は認められなかった(表 2)。

一方、*IRF5* rs2280714 に関しては、WG で A/A 遺伝子型の増加傾向が検出された( $P=0.076$ , OR 2.35, 95%CI 0.91-6.05)。MPA, CSS, MPO-ANCA 陽性群には関連は検出されなかった(表 3)。

### D. 考察

ほかの自己免疫疾患の疾患感受性遺伝子を候補遺伝子とした ANCA 関連血管炎の遺伝子解析は、最近、ドイツにおいて、WG を対象として施行され、検討された 13 遺伝子中、*IRF5* の関連が検出されている(Wieczorek et al., 2010)。同様の研究は、MPA に対しては報告されていない。

本研究では、*BLK* 領域および *STAT4* 領域が MPA あるいは MPO-ANCA 陽性血管炎と関連することが示唆された。また、ドイツ人集団同様、本研究でも、*IRF5* との関連傾向が WG においてのみ検出されている。今後、症例数を増やした検討による確認が必要である。

今回の結果から、ANCA 関連血管炎関

連遺伝子の少なくとも一部は、ほかの自己免疫疾患と共通性を有することが明らかになった。このことは、これらの疾患群の病態形成過程に共通性があり、共通の分子標的を見出しうる可能性があることを示唆する。一方では、ANCA 関連血管炎の中でも、MPA, CSS 群と WG では、遺伝的背景が異なる可能性も示唆される。

現状では、なおサンプルサイズが小さく、偽陽性、偽陰性が否定できない。今後、サンプルサイズをふやした確認とともに、他の疾患感受性候補遺伝子に関する検討も継続する必要がある。

#### E. 結論

MPA あるいは MPO-ANCA 陽性血管炎群と *BLK*, *STAT4* 遺伝子多型との関連が検出され、また、WG では *IRF5* 多型との関連の可能性が示唆された。これらの疾患と、SLE をはじめとする膠原病が、少なくとも一部の疾患感受性遺伝子を共通することが明らかになった。

共同研究者：伊東郁恵、川崎綾（筑波大大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻）、古川宏、當間重人（国立病院機構相模原病院臨床研究センター）、小林茂人（順天堂大附属順天堂越谷病院内科）橋本博史（順天堂大医学部）、山田秀裕、尾崎承一（聖マリアンナ医大リウマチ・膠原病・アレルギー内科）、富田誠（東京医科歯科大臨床試験管理センター）、宮坂信之（東京医科歯科大膠原病・リウマチ内科）、針谷正祥（東京医科歯科大薬害監視学）、槇野博史（岡山大腎・免疫・内分泌代謝内科学）

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Ito I, Kawasaki A, Ito S, Kondo Y, Sugihara M, Horikoshi M, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Tsutsumi A, Takasaki Y, Hashimoto H, Matsuta K, Sumida T, Tsuchiya N. Replication of association between *FAM167A* (*C8orf13*)-*BLK* region and rheumatoid

arthritis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis* 2010;69:936-937

2. Ito I, Kawaguchi K, Kawasaki A, Hasegawa M, Ohashi J, Kawamoto M, Fujimoto M, Takehara K, Sato S, Hara M, Tsuchiya N. Association of the *FAM167A-BLK* region with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2010;62:890-895.
3. Kawasaki A, Ito I, Ito S, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N. Association of *TNFAIP3* polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *J Biomed Biotechnol* 2010; doi:10.1155/2010/207578
4. Shen N, Fu Q, Deng Y, Qian X, Zhao J, Kaufman KM, Wu YL, Yu CY, Tang Y, Chen J-Y, Yang W, Wong M, Kawasaki A, Tsuchiya N, Sumida T, Kawaguchi Y, Howe HS, Mok MY, Bang S-Y, Liu F-L, Chang D-M, Takasaki Y, Hashimoto H, Harley JB, Guthridge JM, Grossman JM, Cantor RM, Song YW, Bae S-C, Chen S, Hahn BH, Lau YL, Tsao BP\* Sex-specific association of X-linked Toll-like receptor 7 (*TLR7*) with male systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:15838-15843.
5. Kawasaki A, Ito S, Furukawa H, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Kusaoi M, Ohashi J, Graham RR, Matsuta K, Behrens TW, Tohma S, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N. Association of *TNFAIP3* interacting protein 1, *TNIP1* with systemic lupus erythematosus in a Japanese population: a case-control association study. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R174
6. Hikami K, Kawasaki A, Ito I, Koga M, Ito S, Hayashi T, Matsumoto I, Tsutsumi A, Kusaoi M, Takasaki Y, Hashimoto H, Arinami T, Sumida T, Tsuchiya N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated

- region of *SPI1* with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (in press)
7. 土屋尚之：環境因子(日本臨床増刊号「関節リウマチ(第2版)」) *日本臨床* 2010;68(suppl. 5):80-84.
  8. 土屋尚之、伊東郁恵、川崎綾：*IRF5*、*STAT4*、*BLK*と全身性エリテマトーデスをはじめとする膠原病との関連。 *日本臨床免疫学会誌* 2010;33:57-65.
  9. 土屋尚之：病因。最新医学別冊「新しい診断と治療のABC 67 全身性エリテマトーデス」最新医学社 pp.58-71,2010.
  10. 土屋尚之：ゲノミクスによる血管炎関連遺伝子の探索。 *炎症と免疫* 2010;18:502-508.
  11. 土屋尚之：膠原病の疾患感受性遺伝子解析。 *臨床と研究* 2010;87:1184-1189.
  12. 土屋尚之：膠原病のゲノム解析。 *カレントセラピー* 2010;28:884-890.
2. 学会発表
    1. 土屋尚之、伊東郁恵、小林茂人、橋本博史：顕微鏡的多発血管炎と *BLK* 領域多型の関連。第54回日本リウマチ学会、平成22年4月22日～25日、神戸。
    2. 川崎綾、伊藤聡、林太智、後藤大輔、松本功、高崎芳成、橋本博史、住田孝之、土屋尚之：日本人集団における *TLR7* 多型と全身性エリテマトーデスの関連。第54回日本リウマチ学会、平成22年4月22日～25日、神戸。
    3. 伊東郁恵、川崎綾、伊藤聡、林太智、後藤大輔、松本功、高崎芳成、橋本博史、住田孝之、土屋尚之：*BLK* 近傍8p23.1に位置する *XKR6*、*C8orf12* と日本人全身性エリテマトーデスとの関連の検討。第54回日本リウマチ学会、平成22年4月22日～25日、神戸。
    4. 南礼子、松本功、川崎綾、伊東郁恵、田中陽子、井上明日香、林太智、後藤大輔、伊藤聡、土屋尚之、住田孝之：関節リウマチにおける *STEAP4* 遺伝子多型と TNF 阻害薬有効性との関連。第54回日本リウマチ学会、平成22年4月22日～25日、神戸。
  5. Kawasaki A, Ito S, Furukawa H, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Graham RR, Behrens TW, Tohma S, Takasaki Y, Hashimoto Hi, Sumida T, Tsuchiya N. Association of *TNFAIP3* and *TNIP1* SNPs with systemic lupus erythematosus in a Japanese population. 9th International Congress on Systemic Lupus Erythematosus, Vancouver, Canada June 24–27, 2010.
  6. Ito I, Ito S, Furukawa H, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Takasaki Y, Hashimoto H, Tohma S, Sumida T, Tsuchiya N. An association study of 8p23.1 region encoding *BLK*, *FAM167A*, *C8orf12* and *XKR6* with systemic lupus erythematosus in Japanese. 9th International Congress on Systemic Lupus Erythematosus, Vancouver, Canada June 24–27, 2010.
  7. Shen N, Fu Q, Deng Y, Qian X, Zhao J, Kaufman KM, Tang Y, Chen J-Y, Yang W, Wong M, Kawasaki A, Tsuchiya N, Sumida T, Kawaguchi Y, Yu CY, Howe HS, Mok MY, Bang S-Y, Liu F-L, Chang D-M, Takasaki Y, Hashimoto H, Harley JB, Guthridge JM, Grossman JM, Cantor RM, Song YW, Bae S-C, Chen S-L, Hahn BH, Lau YL, Tsao BP. Gender specific association of X-linked *TLR7* with male SLE. 9th International Congress on Systemic Lupus Erythematosus, Vancouver, Canada June 24–27, 2010.
  8. 古谷匠、古賀農人、氷上光輝、川崎綾、土屋尚之。全身性エリテマトーデス抵抗性 *APRIL(TNFSF13)* ハプロタイプおよび  $\beta$  アイソフォームにおける可溶性 *APRIL* の減少。第19回日本組織適合性学会、2010年9月17日～19日、東京。



9. 古谷匠、古賀農人、氷上光輝、川崎綾、土屋尚之：全身性エリテマトーデス関連遺伝子 *APRIL(TNFSF13)*多型と選択的スプライシングが可溶性分子の分泌に与える影響. 第55回日本人類遺伝学会。2010年10月27日～30日、大宮。
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)
1. 特許取得  
なし。
  2. 実用新案登録  
なし。
  3. その他  
なし。

表1 日本人 ANCA 関連血管炎と *BLK* 領域 SNP rs13277113 の関連

	遺伝子型頻度			アレルモデル <sup>*1</sup>		劣性モデル <sup>*2</sup>	
	A/A	A/G	G/G	<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=99)	55 (55.6)	34 (34.3)	10 (10.1)	0.089	1.34 (0.96-1.88)	0.035	1.59 (1.03-2.45)
CSS (n=10)	6 (60.0)	4 (40.0)	0 (0)	0.21	2.01 (0.68-5.93)	0.31	1.91 (0.54-6.71)
WG (n=18)	8 (44.4)	7 (38.9)	3 (16.7)	0.74	0.89 (0.45-1.78)	0.97	1.02 (0.39-2.62)
MPO-ANCA 陽性(n=109)	61 (56.0)	36 (33.0)	12 (11.0)	0.089	1.32 (0.96-1.83)	0.023	1.62 (1.07-2.45)
Control (n=511)	225 (44.0)	230 (45.0)	56 (11.0)		reference		reference

\*1 G アレルに対する A アレルの関連

\*2 (G/G+A/G)遺伝子型に対する A/A 遺伝子型の関連

OR: オッズ比、CI: 信頼区間

表2 日本人 ANCA 関連血管炎と *STAT4* イントロン SNP rs7574865 の関連

	遺伝子型頻度			アレルモデル <sup>*1</sup>		劣性モデル <sup>*2</sup>	
	T/T	T/G	G/G	<i>P</i>	OR (95%CI)	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=99)	17 (17.2)	38 (38.4)	44 (44.4)	0.35	1.16 (0.85-1.60)	0.053	1.78 (0.99-3.22)
CSS (n=10)	4 (40.0)	1 (10.0)	5 (50.0)	0.26	1.67 (0.69-4.02)	0.0030	5.75 (1.81-18.3)
WG (n=18)	2 (11.1)	9 (50.0)	7 (38.9)	0.69	1.15 (0.58-2.30)	0.92	1.08 (0.24-4.82)
MPO-ANCA 陽性(n=109)	21 (19.3)	40 (36.7)	48 (44.0)	0.19	1.23 (0.91-1.66)	0.0095	2.06 (1.19-3.55)
Control (n=510)	53 (10.4)	230 (45.1)	227 (44.5)		reference		reference

\*1 G アレルに対する T アレルの関連

\*2 (G/G+T/G)遺伝子型に対する T/T 遺伝子型の関連

OR: オッズ比、CI: 信頼区間

表3 日本人 ANCA 関連血管炎と *IRF5* 領域 SNP rs2280714 の関連

	遺伝子型頻度			アレルモデル* <sup>1</sup>		優性・劣性モデル* <sup>2</sup>		
	A/A	A/G	G/G	<i>P</i>	OR (95%CI)	モデル	<i>P</i>	OR (95%CI)
MPA (n=96)	26 (27.1)	50 (52.1)	20 (20.8)	0.55	0.91 (0.67-1.24)	優性	0.37	1.03 (0.60-1.77)
CSS (n=10)	4 (40.0)	4 (40.0)	2 (20.0)	0.69	1.20 (0.49-2.97)	劣性	0.61	1.39 (0.39-4.99)
WG (n=17)	9 (52.9)	6 (35.2)	2 (11.8)	0.081	1.93 (0.92-4.02)	劣性	0.076	2.35 (0.91-6.05)
MPO-ANCA 陽性 (n=109)	33 (30.3)	57 (52.3)	19 (17.4)	0.80	1.04 (0.77-1.40)	優性	0.36	1.29 (0.75-2.20)
Control (n=510)	165 (32.4)	236 (46.3)	109 (21.4)		reference			reference

\*<sup>1</sup> G アレルに対する A アレルの関連

\*<sup>2</sup> 優性モデル： G/G 遺伝子型に対する(A/A+A/G)遺伝子型の関連

劣性モデル：(A/G+G/G)遺伝子型に対する A/A 遺伝子型の関連

OR: オッズ比、CI: 信頼区間

# 【大型血管炎分科会】