

さらに、平成17年歯科疾患実態調査結果 (<http://www.mhlw.go.jp/topics/2007/01/tp0129-1.html>) を一般集団群として、性・年齢別にパーチェット病患者群との比較を行った。

全般に、両群の1人平均現在歯数に大きな差は認められなかった。60歳以上の男女では、パーチェット病患者群に現在歯数がより多い傾向が示された。その一方で、25-29歳の男性および55-59歳の男女で、パーチェット病患者群に未処置歯数がより多い傾向が認められた。一般に歯周病ありと診断されるCPIスコア3以上を有する者の割合を比較すると、40-49歳女性を除き、男女ともにすべての年齢層でパーチェット病患者群により高い割合が示された。1日あたりの歯磨き回数について、両群に有意な差は認められなかった。

2. 疾患分類別の分析結果

上記の44名のうち、疾患分類に関する回答が得られた39名(男性20名、女性19名)について、さらに分析を行った。疾患分類の内訳は、完全型8名、不全型16名、特殊型15名であった。特殊型の内訳は、腸管型8名、血管型3名、神経型6名、不明1名であった(複数回答含む)。

男性において、特殊型は他群と比較して、男性平均年齢がより低く、過去1年間の口腔内アフタ出現日数がより長く認められた(表1)。現在あるいは過去の喫煙割合は特殊型の男性により高く認められたが、群間の差は有意ではなかった。現在あるいは過去飲酒割合については、完全型の患者により高く認められた。特殊型の男性は口腔内の自覚症状を有し、歯間清掃器具を使用しない傾向にあったが、他群と比較して差は有意ではなかった。

女性では、男性と同様に、特殊型の患者に

過去1年間の口腔内アフタ出現日数がより長く認められたが、他群との差は有意ではなかった。また、不全型の患者に現在あるいは過去飲酒の割合が有意に高く認められた。

性・年齢を調整した共分散分析による解析結果を表2に示す。特殊型の患者に、平均う蝕経験歯数(DMFT)およびプロービング時の歯肉出血割合(BOP)が高く認められる傾向にあった。歯周組織の炎症状態を示す指標である歯周ポケット(PD)や付着の喪失(AL)の程度や歯磨き回数は、各群ともにほぼ同様の結果であった。不全型の患者は他群と比較して、より高いGHQスコアが認められた。

D. 考察

このたびの検討から、パーチェット病患者の歯周病の有病割合が一般集団より高く、口腔内アフタの出現が歯周組織の炎症や精神的健康度に影響している可能性が示唆された。

全体の8割の対象者が1日に2回以上歯磨きを回答する一方で、多くの者にプロービング時の歯肉出血が認められた。歯磨き回数と口腔内アフタの出現回数に有意な関連は示されなかったが、口腔清掃の徹底という面からアフタの存在が阻害因子になる可能性は考えられよう。また、口腔内アフタがあるため歯科治療が受けにくいなど、間接的な影響も推察される。歯科受診抑制にかかわる要因を含めた、口腔内アフタに関するさらなる検討は予防医学的観点からも有用であろう。

本研究の参加者、とりわけ高齢の患者は健康意識が高いことが予想され、それが口腔の健康の維持につながっていることが推察された。喫煙や糖尿病は、歯周病発症および進行におけるリスク因子であることが知られている。今回の結果から、本集団においては、糖尿病の罹患率や喫煙率の低さが歯周病の進行を抑制する方向に働いていることも考えられた。

一般にGHQスコア4以上は、不良な精神的健康状態を示すことが知られている。今回の対象者においては、全体の半数以上（52%）の者が4以上を示した。横断的分析であることから因果関係は問えないものの、アフタの有無と精神的健康度が有意に関連することが示唆された。

疾患分類別の比較では、特殊型の患者において口腔内の健康状態がより不良である可能性が示された。ただし、解析対象人数が39名と少なく、解析上、統計学的な調整はなされているものの、各群の平均年齢に差があり、これらが結果に影響を及ぼしていることも考えられる。今後、対象者数を増やした検討が必要であろう。

以上の結果をもとに本研究を展開させるとともに、その成果を広く社会へ還元することで、患者や医療従事者の口腔保健への意識を高め、ひいては患者の疾病負担の軽減やQOL向上につなげていきたいと考えている。

E. 結論

パーチェット病患者の歯周病の有病割合が一般集団より高く、口腔内アフタの出現が歯周組織の炎症や精神的健康度に影響している可能性が示唆された。今後、さらに臨床データを蓄積しながら、口腔状態と生活習慣、疾患重症度の関連について、疾患分類別に分析を進める予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Naito M, Kato T, Fujii W, Ozeki M, Yokoyama M, Hamajima N, Saitoh E. Effect of dental treatments on activity

for daily living and quality of life in Japanese institutionalized elderly. *Arch Gerontol Geriatr* 2010;50:65-68.

2. 藤井由希, 関根千佳, 山田 清, 高田康二, 山川悦子, 内藤真理子. 職域における口腔保健活動と口腔関連QOL: 少数回および多数回参加者による比較検討. *口衛誌* 2010;60:2-10.
3. Naito M. Oral health, general health, and health-related quality of life. *Conference proceedings of International Symposium for Global Oral Health Science Niigata 2010*. *Journal of Dental Health* (in press)

2. 学会発表

1. 内藤真理子, 稲垣幸司, 山本弦太, 畔地美紀, 内藤徹. パーチェット病患者の口腔状態に関する臨床的検討. 第59回日本口腔衛生学会学術総会, 新潟, 2010年10月6-8日.
2. Naito M. Oral health, general health, and health-related quality of life. *International Symposium for Global Oral Health Science Niigata 2010*, Niigata, Japan, 2010. Oct.9.

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

表 1. 性・疾患分類別にみた解析対象者の特徴

	男性 (20名)			P*	女性 (19名)			P*
	完全型	不全型	特殊型		完全型	不全型	特殊型	
人数 (%)	7 (35.0)	7 (35.0)	6 (30.0)	-	1 (5.3)	9 (47.4)	9 (47.4)	-
平均年齢±標準偏差	60±14	49±17	43±7	0.004	63	46±21	57±9	0.470
平均罹病年数±標準偏差	30±9	12±15	9±5	0.080	25	10±15	15±11	0.321
平均口腔内アфта出現日数/年±標準偏差	28±54	116±139	188±148	0.080	30	71±76	122±149	0.610
現在あるいは過去喫煙, %	50.0	28.6	66.7	0.386	0.0	33.3	22.2	0.718
現在あるいは過去飲酒, %	83.3	57.1	16.7	0.066	0.0	75.0	11.1	0.019
GHQスコア4以上, %	33.3	57.1	16.7	0.313	0.0	77.8	77.8	0.226
歯ぐきが腫れることがある, %	57.1	71.4	83.3	0.587	0.0	44.4	44.4	0.681
歯磨き時に出血することがある, %	42.9	57.1	83.3	0.326	0.0	66.7	44.4	0.356
歯間清掃器具をほとんど使用しない, %	28.6	57.1	83.3	0.140	0.0	44.4	55.6	0.556

* 分散分析あるいは χ^2 検定

GHQ: General Health Questionnaire

表 2. 口腔内状況および口腔清掃回数、精神的健康度の疾患分類別比較

	完全型	不全型	特殊型	P
人数 (%)	8 (20.5)	16 (41.0)	15 (38.5)	-
平均年齢±標準偏差	61±13	48±19	52±11	0.152†
平均現在歯数*, 本	26.2	25.4	24.4	0.640
平均DMFT*	15.8	14.8	19.8	0.093
平均BOP*, %	26.5	22.0	41.0	0.083
平均PD*, mm	2.79	2.73	2.71	0.947
平均AL*, mm	2.96	3.03	2.92	0.896
1日平均歯磨き回数*, 回	2.0	2.3	2.2	0.759
平均GHQスコア*	3.9	5.1	4.2	0.668

* 共分散分析 (性・年齢を調整)

† 分散分析

DMFT: Decayed, Missing and Filled teeth, BOP: Bleeding on Probing, PD: Pocket Depth, AL: Attachment Loss

GHQ: General Health Questionnaire

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

全ゲノム網羅的SNP解析によるベーチェット病の感受性遺伝子の同定

研究分担者 水木 信久 横浜市立大学医学部眼科学教室
研究協力者 目黒 明¹⁾ 太田 正穂²⁾ 河越 龍方¹⁾ 南場 研一³⁾
大野 重昭⁴⁾ 北市 伸義⁵⁾ 岳野 光洋⁶⁾ 石ヶ坪良明⁶⁾
杉田 直⁷⁾ 望月 學⁷⁾ 猪子 英俊⁸⁾

- 1) 横浜市立大学医学部眼科学 2) 信州大学医学部法医学
3) 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学 4) 北海道大学大学院医学研究科炎症眼科学
5) 北海道医療大学個性差医療科学センター眼科 6) 横浜市立大学医学部病態免疫制御内科学
7) 東京医科歯科大学医学部眼科学 8) 東海大学医学部分子生命科学

研究要旨

ベーチェット病はHLAクラス I 領域（HLA-B51、HLA-A26）と顕著に相関することが知られているが、本病発症にはHLA遺伝子以外の他の遺伝子も関与している可能性が示唆される。そこで我々は全染色体を網羅する約50万個のSNP（Affymetrix GeneChip Human Mapping 500K Array Set）を用いて、ゲノムワイドな相関解析（genome-wide association study: GWAS）を行うことにより、本病の新たな疾患感受性遺伝子の同定を試みた。

平成21年度に引き続いて日本人ベーチェット病患者および健常者を対象としたGWASを実施した後、トルコ人集団と韓国人集団を対象に追認試験（replication study）を行い、HLA領域以外に人種を超えて本病と有意に相関する2個の遺伝子領域、IL10およびIL23R-IL12RB2を見出した。IL10遺伝子およびIL23R遺伝子またはIL12RB2遺伝子は免疫応答に直接関与する遺伝子であり、ベーチェット病の有力な疾患感受性遺伝子であることが示唆された。

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作用して発症する多因子疾患と考えられている。内的遺伝因子としてHLAクラス I 遺伝子（HLA-B51、HLA-A26）との顕著な相関が知られているが、本病発症にはHLA遺伝子以外の他の遺伝子も関与している可能性が示唆される。そこで我々はゲノム全域を網羅する約50万個のSNPを用いてゲノムワイドな相関解析（genome-wide

association study:GWAS）を行うことにより、HLA遺伝子以外の他の本病感受性遺伝子の同定を試みた。

B. 研究方法

- ① 日本人ベーチェット病患者612例および健常者740例を対象にAffymetrix社のGeneChip Human Mapping 500k Array Setを用いてGWASを行う。解析方法はAffymetrix社のプロトコルを準拠して行う。本GWASでは、集団の階層化またはホモ接合過剰を示す検体を除外した上で、Quality Control

(QC) (SNP callが95%以上、マイナーアリル頻度が5%以上、健常者におけるハーディーワインバーグ平衡がP値0.001以上)を満たすSNPを対象に統計解析を行う。

- ② GWASを完了した後、トルコ人集団を対象に本病のGWASを実施する海外のグループとデータの相互評価 (cross-validation) を行い、疾患感受性領域を絞り込む。
- ③ 絞り込まれた遺伝子領域を対象に詳細なSNP解析 (fine mapping) を行い、本病と最も有意に相関するSNPを特定する。
- ④ fine mappingにより特定されたSNPを対象にトルコ人集団 (患者1,215例、健常者1,279例) および韓国人集団 (患者119例、健常者140例) を用いて追認試験を行い、再現性を検討する。

(倫理面への配慮)

全ての血液提供者に対して研究の目的、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 は連結匿名化の上、本研究に関わら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

- ① 患者612例、健常者740例を対象に500,568個のSNPのジェノタイピングを行った (GWAS)。集団の階層化またはホモ接合過剰を示す検体 (患者1例、健常者3例) を除外した上で、患者611例および健常者737例を対象に500,568個のSNPについてQCチェックを行い、QCを満たす320,438のSNPについて統計解析を行った。

HLA-B遺伝子領域に最も強固な相関、HLA-A遺伝子領域に2番目に強固な相関があり、それぞれ本病の第1および第2の疾患感受性遺伝子と考えられた (図1)。これらの結果は、以前の我々の報告を支持するものである。HLA領域以外では、P値0.0001未満で相関する35個の遺伝子領域が認められた。

- ② トルコ人集団対象のGWASとデータの相互評価を行ったところ、HLA-B、HLA-A、IL10、IL23R-IL12RB2の遺伝子領域が人種を超えて本病と強く相関することが認められた。
- ③ IL10およびIL23R-IL12RB2の2領域を対象に詳細なSNP解析 (fine mapping) を行い、この2領域において日本人ベーチェット病と最も強く相関するSNPを特定した (図2)。
- ④ ③で特定したIL10およびIL23R-IL12RB2の2領域のSNPについて、トルコ人集団および韓国人集団を対象に追認試験を行い、日本人集団と同様の強い相関が認められた (表1)。
- ⑤ 発現解析により、ベーチェット病のIL10リスクSNP (rs1800872) と相関して、IL-10のmRNA発現の低下が認められた。

D. E. 考察と結論

今回のGWASの解析では、Th1細胞に発現しているIL-12レセプター、Th17細胞に発現しているIL-23レセプターおよびTh1系の免疫応答に抑制的に働くIL-10分子にベーチェット病と相関する遺伝変異が発見された。Th1細胞はIL-12により分化・誘導され、その働きはIL-10により抑制されている。今回、IL-10の発現量を低下させるような遺伝変異がベーチェット病で示唆された。また、IL-12のレセプター領域にも本病と相関した

遺伝変異が示唆され、IL-12に対する反応性が異なっている可能性が考えられる。したがって、今回見つかった本病の遺伝変異は、Th1系の免疫応答を抑制するサイトカインであるIL-10の発現を低下させ、また一方で、Th1細胞の易刺激性を亢進するような変異であるのではないかと推察される。

また、今回、IL-23のレセプター遺伝子領域にも本病に関わる遺伝変異が見つかった。IL-23レセプターはTh17細胞やマクロファージに発現しており、IL-23はTh17細胞の増殖と維持、活性化に関与する。近年、Th17細胞は細胞外細菌排除などの感染防御、好中球炎症や自己免疫疾患発症に深く関わっていることが示唆されている。ベーチェット病では、以前より、特殊な連鎖球菌に対する免疫応答が亢進しており、これらの細菌感染が疾患発症のトリガーになっている可能性が示唆されていた。そして、それにより好中球が病巣に異常に遊走され、好中球自体の機能も亢進して暴走していることが本病病態を形成していると考えられていた。したがって、今回の解析で得られた、IL-23レセプターの遺伝変異により、このTh17細胞のIL-23に対する易刺激性が亢進して、本病発症に促進的に働いている可能性が考えられる。

以上をまとめると、ベーチェット病では、その病因となる外来抗原がHLA分子を介して、最初の免疫応答を惹起させ、その後、Th1系免疫応答、Th17系免疫応答が発動されていく過程で、それらの細胞表面のレセプター分子（IL-12レセプターやIL-23レセプター分子）の異常や、それらを制御するサイトカイン（IL-10分子）の異常などにより、これらの免疫系が加速・進展していき、歯止めもかけられない状態に陥っているのではないかと考えられる。今回のGWASでベーチェット病発症に関わる遺伝変異が非HLA

遺伝子であるIL23R-IL12RB2とIL10の2遺伝領域に見つかったことは、本病の病態の解明およびそれらのサイトカインを制御する生物製剤の開発の上で大変意義深い。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behcet's disease susceptibility loci. *Nat Genet.* 2010;42(8):703-6.
2. 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 Behcet disease inside and outside the MHC. *Ann Rheum Dis.* 2010; 69(4): 747-54.
3. Suzuki M, Meguro A, Ota M, Nomura E, Kato 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. Genotyping HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles in Japanese patients with normal tension glaucoma. *Mol Vis.* 2010;16:1874-9.

4. Kurata R, Nakaoka H, Tajima A, Hosomichi K, Shiina T, Meguro A, Mizuki N, Ohono S, Inoue I, Inoko H. TRIM39 and RNF39 are associated with Behcet's disease independently of HLA-B*51 and -A*26. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;401(4): 533-7.
5. Suzuki M, Noda K, Kubota S, Hirasawa M, Ozawa Y, Tsubota K, Mizuki N, Ishida S. Eicosapentaenoic acid suppresses ocular inflammation in endotoxin-induced uveitis. *Mol Vis.* 2010;16:1382-8.
6. Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T, Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, Ikezawa Z, Kuwana M. Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behcet's disease. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(3):R80.
7. Writing Committee for the Normal Tension Glaucoma Genetic Study Group of Japan Glaucoma Society, Meguro A, Inoko H, Ota M, Mizuki N, Bahram S. Genome-wide association study of normal tension glaucoma: common variants in SRBD1 and ELOVL5 contribute to disease susceptibility. *Ophthalmology.* 2010;117(7):1331-8.
8. 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.* 2010;16:462-6.
9. Omoto S, Kuroiwa Y, Otsuka S, Baba Y, Wang C, Li M, Mizuki N, Ueda N, Koyano S, Suzuki Y. P1 and P2 components of human visual evoked potentials are modulated by depth perception of 3-dimensional images. *Clin Neurophysiol.* 2010;121(3):386-91.
10. Wang HB, Kondo A, Yoshida A, Yoshizaki S, Abe S, Bao LL, Mizuki N, Ichino M, Klinman D, Okuda K, Shimada M. Partial protection against SIV challenge by vaccination of adenovirus and MVA vectors in rhesus monkeys. *Gene Ther.* 2010;17(1):4-13.

H. 知的財産権の出願、登録状況

特記事項なし。

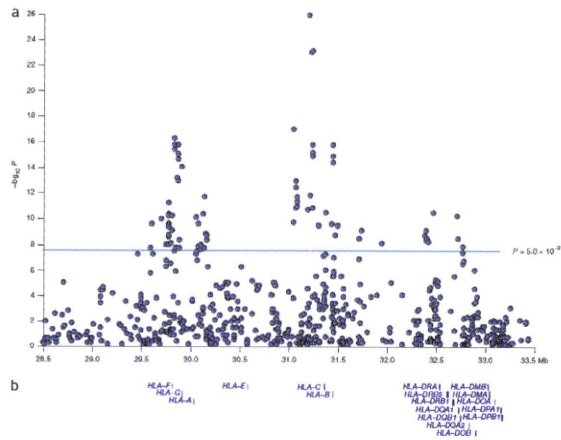


図1. 日本人を対象としたGWASにおけるHLA領域の相関

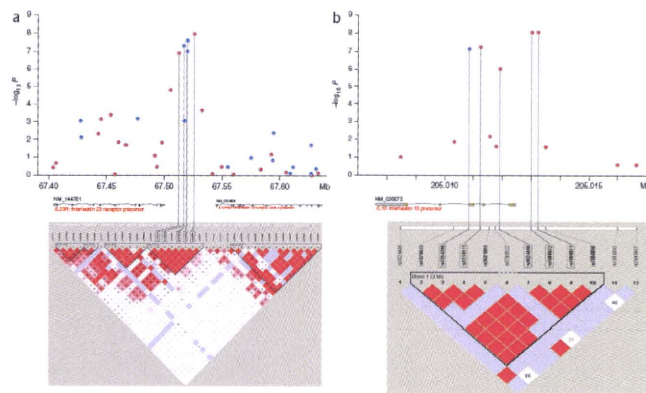


図2. IL23R-IL12RB2およびIL10領域における詳細なSNP解析

表1. IL23R-IL12RB2およびIL10領域Top-signal SNPの各民族における相関

SNP	Chr. position*	Nearest gene	Risk allele	Population	N		Risk allele frequency		P ^b	OR for risk allele (95% CI)
					Cases	Controls	Cases	Controls		
rs1495965	67,526,096	IL23R-IL12RB2	G	Japanese	611	737	0.563	0.451	1.2×10^{-8}	1.56 (1.34-1.83)
				Turkish	1,215	1,279	0.568	0.512	8.4×10^{-6}	1.25 (1.12-1.40)
				Korean	119	140	0.560	0.486	0.094	1.35 (0.95-1.91)
				Overall					1.9×10^{-11}	1.35 (1.24-1.47)
rs1800872	205,013,030	IL10	A	Japanese	611	737	0.765	0.664	9.5×10^{-9}	1.64 (1.39-1.95)
				Turkish	1,215	1,279	0.384	0.315	6.1×10^{-7}	1.35 (1.20-1.52)
				Korean	119	140	0.776	0.694	0.038	1.52 (1.02-2.28)
				Overall					2.1×10^{-14}	1.45 (1.32-1.59)
rs1800871	205,013,257	IL10	T	Japanese	611	737	0.765	0.664	9.5×10^{-9}	1.64 (1.39-1.95)
				Turkish	1,215	1,279	0.383	0.313	3.1×10^{-7}	1.36 (1.21-1.54)
				Korean	119	140	0.774	0.694	0.044	1.51 (1.01-2.25)
				Overall					1.0×10^{-14}	1.45 (1.32-1.60)

*NCBI build 36; all SNPs were located on chromosome 1. ^bP-values for each population were calculated using an allele-based test; overall P-values and ORs in three populations were calculated using the Mantel-Haenszel method.

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

ベーチェット病感受性遺伝子TRIM39の機能解析

研究分担者 猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学
研究協力者 倉田 里穂 東海大学医学部分子生命科学
米沢 朋 東海大学医学部分子生命科学
水木 信久 横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学
太田 正穂 信州大学医学部法医学教室

研究要旨

ベーチェット病 (Behçet's disease: BD) 発症の遺伝的要因として、これまでに *HLA-A*26* と *HLA-B*51* が報告されているが、我々は昨年度、*HLA-A*26* と *HLA-B*51* と独立してBDに感受性を示す *TRIM* (Tripartite motifs) 39を同定した。*TRIM* は自然免疫として働く遺伝子であることが近年明らかになり、*TRIM39* がBD発症に大きく関与することが考えられる。

そこで、*TRIM39* がBD発症にどのように関与するのかについて検討するために、プロテオミクス解析を用いて *TRIM39* の分子機構を明らかにすることを目的とした。今年度はその第一段階として、*TRIM39* 遺伝子過剰発現HEK293T細胞の作製に成功した。今後はマイクロアレイ法と二次元電気泳動法により、パスウェイ解析を行う。本研究は病態モデルマウス作製、診断マーカー作出、新規治療薬開発などに重要なBD病発症メカニズムの解明に貢献する研究である。

A. 研究目的

ベーチェット病 (Behçet's disease: BD) は患者の家族内での発症頻度が高いことや、地中海から東アジアにかけてのシルクロード沿いに患者が非常に多く、シルクロード病とも呼ばれ、発症頻度に地域的な偏りがあることから、遺伝的要因が重要であると考えられている。これまで、自己免疫疾患であることから、ヒト組織適合性抗原 (Human leukocyte antigen: HLA) 遺伝子との関連解析が行われ、*HLA-A*26* と *HLA-B*51* が様々な民族において関連し、BD発症の遺伝的要因であることが報告されてきた。しかし、関連の強さを示すオッズ比は2-5程度 (健常者の2-5倍発症しやすい) であり、両遺伝的要因は共に発症に必須ではないことから、他の遺伝的要因の存在が考

えられた。

遺伝的要因に加え、環境要因もBD発症に重要であると考えられている。健常者と比較して、患者の口腔フローラ内に鎖球菌の *Streptococcus sanguinis* が非常に多く存在し、この菌種に対しての感受性が増大している。また、患者の唾液、腸管および外陰部潰瘍からヘルペス単純ウイルスが検出され、耳にヘルペス単純ウイルスを塗布したICRマウスでBDに非常に類似した病態を示す。これらのことから、口腔内細菌やウイルス感染による炎症応答がBD発症の要因である可能性が高く、インターフェロンを中心としたTh1型の免疫応答が関与することが考えられる。

我々は昨年度までに、日本人BD患者－健常者間において、ゲノム上の一塩基置換

(Single Nucleotide Polymorphism: SNP) 関連解析を行い、新規BD感受性遺伝子としてTRIM (Tripartite motifs) 39を同定した。TRIM39はHLA領域のHLA-AとHLA-Eの間に位置しているが、既報のBD遺伝要因のHLA-A*26とHLA-B*51とは連鎖不平衡に無く、別のパスウェイでBD発症に関与することが考えられる。

TRIMファミリーはアミノ末端側にRING, B-Box, Coiled-Coilドメインを有し、ヒトゲノムに約70個推定されている大きなファミリーで、そのほとんどがC末端側のドメイン可変領域に分子の機能を担うSPRYドメインを持つ。TRIM39を含むほとんどの機能が未知である。機能が明らかにされたいくつかのTRIMでは、TRIM21がリウマチ、全身性エリテマトーデスおよびシェーグレン症候群の重要な自己抗体である。TRIM25はretinoic-acid-inducible gene I (RIG-I) をユビキチン化することでRIG-Iを活性化させ、ウイルス感染における防御的な役割と自己免疫疾患に重要な1型インターフェロン (Interferon: IFN) を誘発する。TRIM21もIFNを誘発することが報告されている。加えて、TRIM5 α に代表される細菌やレトロウイルスへの感染防御における自然免疫応答に重要である。これらのTRIMとドメイン構造が酷似していることから、TRIM39も自己免疫疾患、IFN応答、細菌やレトロウイルス感染に関与することが予想される。

そこで、TRIM39の分子機構とBDへの関与を検討することを目的とし、新規治療薬開発に向けて、BD病発症メカニズムの解明を目指す。

B. 研究方法

CMVベクターのpcDNA6/V5-His (invitrogen) を用いて大腸菌にTRIM39遺伝子を組み込

み、ヒト胎児腎細胞由来の細胞株であるHEK293T培養細胞にリン酸カルシウム法でDNAを導入した。細胞からDNAを抽出し、シーケンス法で遺伝子が導入されていることを確認した。

C. 研究結果

TRIM39遺伝子過剰発現HEK293T細胞の樹立に成功した (図2)。

D. 考察

TRIM39を導入に用いる細胞について、当研究室保有の23のヒト組織や免疫系細胞株由来のmRNAから調整したcDNAを用いてTRIM39のヒトにおける発現分布をSybrGreenの系で定量PCRによって検討し、TRIM39が発現する組織または細胞を絞り込み、対応する細胞株を用いる予定であった。例えば、おどろ膜炎に関与する血管内皮細胞であればHUAECまたはHUVECを、腸管細胞あればCaco2、T細胞であればJurkat等。しかし、発現分布を検討した結果、TRIM39はほぼすべての臓器にユビキタスに発現が見られたため、高効率なDNAの導入が可能であることから様々な研究に幅広く用いられているHEK293T細胞でTRIM39を過剰発現させた。

現在は今年度樹立したTRIM39遺伝子過剰発現HEK293T細胞と空ベクターを導入したモック細胞を比較して発現差のある遺伝子をWhole Human GenomeオリゴDNAマイクロアレイ (Agilent Technologies) によって網羅的に探索中である。今後、擬陽性を減らすために、二次元電気泳動法を用いて発現差のあるタンパク質をMS/MSで同定し、マイクロアレイデータと比較してパスウェイ解析を行い、TRIM39の分子機構とBDへの関与を検討する。

E. 健康危険情報

特記事項なし

F. 研究発表

F-1. 論文発表

1. Kurata R, Nakaoka H, Tajima A, Hosomichi K, Shiina T, Meguro A, Mizuki N, Ohno S, Inoue I, Inoko H: TRIM39 and RNF39 are associated with Behçet's disease independently of HLA-B 51 and -A 26. *Biochem Biophys Res Commun* 401: 533-537, 2010.
2. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H: Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nature Genet* 42: 703-706, 2010.
3. 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: 55-64, 2010.
4. 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: 462-466, 2010.

5. Writing Committee for the Normal Tension Glaucoma Genetic Study Group of Japan Glaucoma Society, Meguro A, Inoko H, Ota M, Mizuki N, Bahram S: Genome-wide association study of normal tension glaucoma: common variants in SRBD1 and ELOVL5 contribute to disease susceptibility. *Ophthalmology* 117: 1331-1338, 2010.
6. Suzuki M, Meguro A, Ota M, Nomura E, Kato 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: Genotyping HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles in Japanese patients with normal tension glaucoma. *Mol Vis* 16: 1874-1879, 2010.

F-2. 学会発表

1. ○倉田里穂, 中岡博史, 田嶋 敦, 斉藤卓磨, 細道一善, 椎名 隆, 目黒 明, 大野重昭, 水木信久, 井ノ上逸朗, 猪子英俊、ベーチェット病の新規感受性遺伝子TRIM39、第9回生体機能研究会、7月2010年
2. ○倉田里穂, 中岡博史, 田嶋 敦, 斉藤卓磨, 細道一善, 椎名 隆, 目黒 明, 大野重昭, 水木信久, 井ノ上逸朗, 猪子英俊、HLA領域に位置する新規ベー

レット病感受性遺伝子、第19回日本組織適合性学会大会、9月2010年

3. ○倉田里穂, 中岡博史, 田嶋 敦, 齊藤卓磨, 細道一善, 椎名 隆, 目黒 明, 大野重昭, 水木信久, 井ノ上逸朗, 猪子英俊、ベーレット病の新規感受性遺伝子TRIM39、日本人類遺伝学会第55回大会、10月2010年
4. ○倉田里穂, 中岡博史, 田嶋 敦, 齊藤

卓磨, 細道一善, 椎名 隆, 目黒 明, 大野重昭, 水木信久, 井ノ上逸朗, 猪子英俊、ベーレット病の新規感受性遺伝子TRIM39、第33回日本分子生物学会年会、12月2010年

G. 知的財産権の出願、登録状

なし

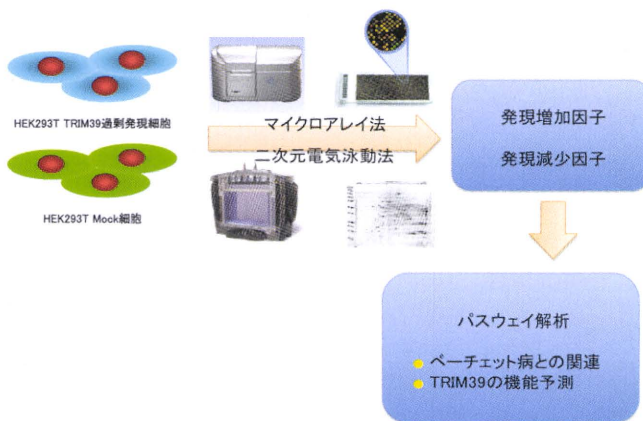


図1. 研究の流れ

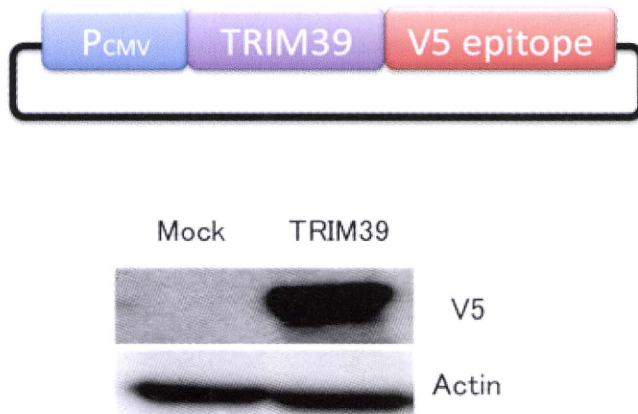


図2. TRIM39遺伝子過剰発現HEK293T細胞を樹立した

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

ベーチェット病疾患感受性候補遺伝子ROBO1のリ・シーケンシング解析

研究分担者	太田正穂	信州大学医学部法医学教室
研究協力者	勝山善彦	信州大学附属病院薬剤部
	目黒 明、水木信久	横浜市立大学大学院視覚器病態学
	大野重昭	北海道大学医学部視覚器病学
	椎名 隆、岡 晃、猪子英俊	東海大学分子生命科学遺伝情報部門

研究要旨

マイクロサテライトを用いた全ゲノムレベルの相関解析で、3番染色体3p12に位置するD3S0186iマイクロサテライトマーカーがベーチェット病（BD）疾患感受性と有意な相関が見られている。このマーカーの存在するROBO1遺伝子について、遺伝子内に存在するSNPを用いてfine mappingを行ったところ、患者群と健常者群間で、2個のSNPs（rs6779556-rs7653782）からなるハプロタイプに構造的な違いが観察された。また、そのハプロタイプ頻度に有意な相関（R.R.>6.7, $p<1.6\times 10^{-6}$ ）が認められ、有意差を示したハプロタイプ（T-C, G-T）は、患者群と健常者群においてマイナーな頻度を示すハプロタイプであったが、患者群においては何れも18%以上の頻度で存在していた。本年度は、患者群と健常者群からこれらのハプロタイプを持ったサンプル10種類を選び次世代シーケンサーを用いて、この遺伝子領域（950Kb）を解析している。現在、解析結果が得られていないが、マイクロサテライトで検出されたアリルは時代的に新しく形成されたものと考えられ、このアリルがROBO1遺伝子内のSNPで見いだされた稀なハプロタイプと関連していると推測される。顕著な感受性を示したハプロタイプをもつ患者群は、ROBO1遺伝子の機能的性質から特殊な病態を示す群である可能性が高いと思われる。

A. 研究目的

ゲノム全領域を網羅するマイクロサテライトマーカー23,465個を用いた疾患感受性遺伝子スクリーニングで、ベーチェットと相関を示すマイクロサテライトD3S0186iを検出した。このマイクロサテライトはROBO1（Roundabout）遺伝子のイントロン3に位置していたことから、ROBO1遺伝子を疾患感受性遺伝子と考えて詳細なマッピングを14種類のSNPsを用いて相関解析を行った。その結果、2種類のSNPs間のハプロタイプで顕著な相関を示した（R.R.>6.7, $p<1.6\times 10^{-6}$ ）。

一方我々が行った500K SNPsを用いたGWAS解析では、IL23R/IL12RB2とIL10遺伝子がベーチェット病の疾患感受性遺伝子として関与していることを報告した¹⁾。GWAS解析ではROBO1遺伝子が上位30位内の候補遺伝子にも選出されていなかった。

そこで今回、マイクロサテライト解析における結果とGWAS解析における結果の相違が生じる要因について考察するとともに、顕著な相関を示したハプロタイプをもつ患者群とコントロール群のROBO1遺伝子領域のリ・シーケンスを行い、遺伝子内の構造的な相

違を比較し、疾患発症に関わる要因を考察する。

B. 研究方法

- ① 横浜市立大学附属病院眼科または北海道大学附属病院眼科で管理しているペーチェット病患者200人、健常者190人のDNAを解析に用いた。解析にあたり、使用するDNAは、提供者から同意を得たものを使用している。
- ② 解析に用いた*ROBO1*遺伝子内SNPsと型判定
解析に用いたSNPsは、*ROBO1*遺伝子内約950Kb間に一定の間隔で設定したものである。何れのSNPsも日本人におけるハップマップデータベースにて多型性を示したものを選出した。SNPsの遺伝子型判定は、ABI TaqMan SNP genotyping assay kitを用い、TaqMan Real Time PCR (7500 Real Time PCR System, ABI) で行った。
- ③ 統計解析は、 χ^2 test, Fisher's exact test, Hardy Weinberg Equilibrium test, Linkage Disequilibrium(LD)analysis, Haplotype analysis (Haploview ソフト) を行った。
- ④ リシークエンス用のサンプル
リシークエンスは、Roche 454 FLXジュニア次世代シーケンサーを用いて解析する。解析はSNP2(rs7653782)がT/Tのホモ接合体SNP3(rs6795556)がC/Cのホモ接合体と、SNP2がG/Gのホモ接合体SNP3がT/Tのホモ接合体を示すサンプルを患者群と健常者群より選出した。

(倫理面への配慮)

全ての血液提供者に対して研究の目的、研究の期間と方法等、研究に関わる事項を十分説明して、インフォームドコンセントを得た上で参加して頂いた。得られた個人情報は連

結匿名化の上、本研究に関わらない個人情報管理は管理者により厳重に管理されている。また、研究にあたっては、信州大学、横浜市立大学、北海道大学の各倫理委員会で承認を受けている。

C. 研究結果と考察

日本人ペーチェット病患者において*ROBO1*遺伝子内に設けた14種類のSNPsを用いた相関解析では、rs7653782と弱い抵抗性の相関 (R.R.=0.45, p=0.01) を示した。また、LDブロック構造を患者群と対照群で比較すると、SNP2 (rs7653782) -SNP3 (rs6795556) 間のLD値が両群で著しく異なっていた (表1)。この2つのSNPsの推定ハプロタイプ頻度を求め、相関解析を行うとマイナーハプロタイプTCとGTで強い相関 ($P < 1.6 \times 10^{-6}$, R.R.>6.7) を示した。

SNP2とSNP3間においてTC,GTを示すハプロタイプを構成する総ての遺伝子型の実測数を求めると、表2に示すように何れの組合せにおいても患者群の方が、コントロール群に比べて有意に頻度が高かった。これらの情報を基に、SNP2, SNP3からハプロタイプTC, GTを示し、14種類の各SNPが極力ホモ接合体を示すサンプルを患者群で5サンプル、コントロール群で5サンプルを選んだ (表3)。これらのサンプルについて、現在Roche 454 FLXジュニア次世代シーケンサーを用いて解析中である。

通常GWASで疾患感受性として検出されるcommon variantは、疾患への効果が小さく、病気への影響度は大きくないと言われている。今回ゲノムワイドなマイクロサテライト相関解析で見いだされた*ROBO1*遺伝子は、遺伝子内にある2種類のSNPで示す稀なハプロタイプ内と関連があると考えられた。特にこの20Kb程の間に疾患感受性に関わる

構造的な相違があると推定される。まれなアリの病気への浸透度は中から高程度を示すといわれており、今回顕著な有意差を示した患者群は、ベーチェット病でも特殊な病態を示す可能性が考えられる。また、マイクロサテライトで検出されたアリルは時代的に新しく形成されたものと考えられ、このアリルが *ROBO1* 遺伝子内の SNP で見いだされた稀なハプロタイプと関連していたと推測される。

神経の軸索を誘導する遺伝子 Axon Guidance Receptor Gene (*ROBO1*) は、神経細胞接着分子のレセプターを制御している遺伝子と言われている²⁾。神経細胞接着分子レセプターファミリーの一員である *ROBO1* は、神経や癌における疾患との関連が報告されているが、未だその機能については不明なことが多い。最近、網膜色素上皮細胞上の *ROBO1* 分子の発現量と増殖性硝子体網膜症との関係に関する報告もあり³⁾、*ROBO1* 分子が眼組織で重要な機能を果たしていると推測され、本遺伝子がベーチェット病発症機序に関与している可能性が示唆される。

D. 参考文献

- 1) Mizuki N, Meguro A, Ota M, et al. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 21:298-303, 2010.
- 2) Kidd T, Brose K, Mitchell KJ, et al. Roundabout controls axon crossing of the CNS midline and defines a novel subfamily of evolutionarily conserved guidance receptors. *Cell* 92:205-215, 1998.
- 3) Huang L, Xu Y, Yu W, et al. Effect of *ROBO1* on retinal pigment epithelial cells and experimental proliferative

vitreoretinopathy. *Inv Opht Vis Sci* 51: 3193-3204, 2010.

E. 健康危険情報

特記事項なし

F. 論文発表

1. 太田正穂、水木信久：「遺伝性疾患」と白内障。眼科ケア、12:92-95, 2010
2. Suzuki M, Meguro A, Ota M, Nomura E, Kato 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. Genotyping HLA-DRB1 and HLA-DQB1 alleles in Japanese patients with normal tension glaucoma. *Mol Vis*, 2010 ; 16: 1874-9.
3. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB 2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet*, 2010; 21:298-303.
4. Writing Committee for the Normal Tension Glaucoma Genetic Study Group of Japan Glaucoma Society, Meguro A, Inoko H, Ota M, Mizuki N, Bahram S. Genome-wide association study of normal tension glaucoma: common variants in *SRBD1* and *ELOVL5*

contribute to disease susceptibility.
Ophthalmology, 2010 ; 117: 1331-8.

5. 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, 2010; 16: 462-6.

G. 知的財産権の出願・特許状況
なし

表1. SNP2-SNP3ハプロタイプとの相関

SNP2-3 Haplotype	Patient n=200 (%)	Contol n=191 (%)	R.R.	P
GC	96 (48.1)	123 (64.6)	0.51	0.0011
TT	29 (14.4)	58 (30.3)	0.39	0.00016
TC	38 (18.9)	6 (3.2)	6.76	1.6×10^{-6} *
GT	37 (18.6)	4 (1.9)	9.58	2.9×10^{-7} *

推定ハプロタイプと頻度はHaploview
(<http://www.borad.mit.edu/haploview>)より求めた。

* : Yeatsの補正值
 2×4 分画. ²検定: $p=1.09 \times 10^{-12}$

表2. SNP2-SNP3における遺伝子型観測値

SNP2-3	SNP2 rs679556	SNP3 rs7653782	Patient n=200	Control n=191	P 値
T-C	T/T	C/C	9	0	0.003
	T/T	C/T	13	4	0.033
	G/T	C/C	31	8	0.0002
G-T	G/G	T/T	11	0	0.001
	G/G	C/T	30	5	0.00002
	G/T	T/T	10	1	0.008

表3. 解析に用いた資料の各SNPの遺伝子型

患者群

Sample	SNP1 rs1826143	SNP2 rs7855598	SNP3 rs7653782	SNP4 rs339472	SNP5 rs331147	SNP6 rs328047	SNP7 rs328048	SNP8 rs6548801	SNP9 rs17016880	SNP10 rs3658034	SNP11 rs6789328	SNP12 rs784825	SNP13 rs4533809	SNP14 rs7823728
B1	G/G	T/T	C/C	T/T	T/T	A/A	G/G	A/A	A/A	G/G	A/A	T/T	C/C	T/T
B2	G/T	T/T	C/C	C/C	G/T	A/A	C/G	A/A	A/A	G/G	A/A	T/T	C/C	C/C
B3	G/G	T/T	C/C	C/C	G/G	A/A	C/C	A/A	A/A	G/G	A/G	C/T	C/C	C/T
B4	G/T	G/G	T/T	T/T	T/T	G/G	C/C	A/G	A/A	G/G	A/G	C/T	C/C	T/T
B5	T/T	G/G	T/T	T/T	T/T	G/G	C/C	G/G	A/G	A/G	A/G	C/T	C/C	C/T

健常者群

Sample	SNP1 rs7626143	SNP2 rs6795556	SNP3 rs7653782	SNP4 rs339472	SNP5 rs331147	SNP6 rs328047	SNP7 rs328048	SNP8 rs6548801	SNP9 rs17016880	SNP10 rs3658034	SNP11 rs6789328	SNP12 rs784825	SNP13 rs4533809	SNP14 rs7823728
C1	T/T	T/T	C/T	C/C	G/G	A/A	C/C	A/A	G/G	A/G	A/G	C/C	C/T	T/T
C2	G/T	T/T	C/T	T/T	T/T	G/G	C/G	A/G	A/A	A/A	A/A	C/T	C/C	C/T
C3	G/T	T/T	C/T	T/T	T/T	A/G	C/G	A/A	G/G	G/G	A/G	C/T	C/C	C/T
C4	T/T	G/G	C/T	T/T	G/G	A/G	C/G	A/G	A/A	G/G	G/G	C/T	C/C	C/T
C5	G/T	G/G	C/T	T/T	T/T	A/A	G/G	A/A	A/A	A/G	A/A	T/T	C/C	C/T

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

ベーチェット病ぶどう膜炎とHLA-A26

研究分担者 蕪城 俊克 東京大学大学院医学研究科眼科学教室
研究協力者 高本 光子、沼賀 二郎、川島 秀俊、新家 眞
東京大学大学院医学研究科眼科学教室
針原 伸二 東京大学大学院理学系研究科人類遺伝学
桑田 昇司 帝京大学ちば医療センター内科
大野木由加、竹内二士夫
東京大学大学院医学研究科アレルギーリウマチ内科学教室

研究要旨

[目的] ぶどう膜炎を有するベーチェット病患者について、HLA-A,Bのタイピングを行い、視力予後との相関を検討した。[方法] ベーチェット病患者88名および健常人104名から採血を行い、HLA-A,Bのタイピングを行った。ベーチェット病患者と関連したアリルと視力予後の関係を検討した。[結果] ベーチェット病では、HLA-B*5101 (47% vs 18%, $P_c=0.0011$) と HLA-A*2601 (38% vs 14%, $P_c=0.0053$) の表現型頻度が健常人と比し有意に高く、B*5201 (14% vs 29%, $P_c=0.388$) は低い傾向があった。A*2601の陽性率はB*5101陰性のベーチェット病患者でB*5101陰性の健常人と比べて特に高かった (57% vs 14%, $P_c=4.58 \times 10^{-6}$)。A*2602には両群間で差はなかった。HLA-A*2601陽性患者はHLA-A*2601陰性患者と比べて最終矯正視力が0.1以下の患者の割合が有意に高かった (61% vs 35%, $p=0.026$)。[結論] HLA-A*2601はHLA-B*5101と独立してベーチェット病ぶどう膜炎患者と相関がみられ、A*2601はベーチェット病ぶどう膜炎の第二の感受性遺伝子である可能性がある。また、A*2601陽性患者は視力予後が悪い可能性がある。

A. 研究目的

ベーチェット病の疾患感受性遺伝子の研究は、我が国を中心に研究が進められ、まずHLAに関してHLA-B*51が様々な国のベーチェット病患者で高い陽性率を示すことが示された^{1, 2)}。その後、ゲノムワイドの解析でも、HLA-B*5101が最も相関性の高い疾患感受性遺伝子であること³⁾、HLA-B*5101の次に相関性の高い遺伝子はHLA-A*26であること⁴⁾が報告された。さらに最近の報告では、HLA領域以外に関してはIL-23R-IL12-RB2領

域とIL-10遺伝子に相関性が高いことが報告された⁵⁾。

今回、東京大学附属病院に通院中のぶどう膜炎を有するベーチェット病患者についてHLA class Iをタイピングし、ベーチェット病に多いHLAタイプについて、患者の臨床データとの相関性を検討した。

B. 研究方法

対象は、2005年2月から2009年6月までに東大病院眼科に通院したぶどう膜炎を有す

るベーチェット病患者88例（男性71例、女性17例、平均年齢 51.7±13.2歳）である。コントロール群として健常人104例（男性80例、女性24例、平均年齢50.2±10.6歳）についてもHLA class Iを検討した。

HLAのタイピングは、まずHLA-A および -B 遺伝子領域をPCRで増幅し、oligonucleotide probes (INNO-LiPA HLA-A update and INNO-LIPA HLA-B update Plus, Innogenetix, Dartford, England)を用いてHLAタイピングを行った。タイピング結果はHLA class I DNA Typing Tray (One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA) を用いて再確認した。患者の臨床データは診療録よりretrospectiveに収集した。

C. 研究結果

表1にベーチェット病ぶどう膜炎患者および正常人のHLA-Aおよび-Bの表現型頻度で有意差のあったものを示す。HLA-B*5101の頻度は、ベーチェット病で46.6%、正常人で18.3%、HLA-A*2601は、ベーチェット病で37.5%、正常人で14.4%であり、いずれもベーチェット病患者で有意に増加していた。一方B*5201はベーチェット病で少なかったが、Bonferoni補正後の統計学的な有意差はなかった。HLA-B*5101かA2601のいずれかを持つ人の頻度は、ベーチェット病で77.3%、正常人で29.8%であり、高い有意差がみられた。

表2にHLA-B*5101の有無で分けた場合のHLA-A*26の表現型頻度を示す。HLA-B*5101陽性群では、HLA-A*2601はベーチェット病の14.6%、正常人の15.8%にみられ、有意差はなかった。一方、HLA-B*5101陰性群では、HLA-A*2601はベーチェット病で57.4%、正常人では14.1%であり、ベーチェット病でHLA-A*2601頻度が有意に高頻度であった。

この結果から、HLA-A*2601はHLA-B*5101とは独立してベーチェット病ぶどう膜炎と相関するものと考えられた。

次にHLA-B*5101の有無により患者の臨床データを2群に分けて比較した。性別、発症時年齢、完全型／不全型、両眼性／片眼性、虹彩炎型／網脈絡膜炎型、初診時視力、最終観察時視力、使用した薬剤についてHLA-B*5101の有無で2群に分けて比較したが、いずれも両群間に有意差はなかった（表3）。一方、HLA-A*2601の有無で患者の臨床データを2群に分けて検討したところ、HLA-A*2601陽性群では不全型がやや多い傾向があり、また初診時矯正視力および最終観察時矯正視力がHLA-A*2601陽性群で陰性群と比べて有意に悪い結果であった（表4）。また、両群間の矯正視力の差は、初診時に比べ最終観察時では拡大していた。

HLA-A*2601が視力予後不良と関連する可能性が示唆されたため、視力不良眼の最終観察時矯正視力が0.1以下を視力予後不良症例と定義し、視力予後不良症例とHLA-B*5101、HLA-A*2601の関連性の検討を行った。その結果、視力不良例は、HLA-B*5101陽性群で16例（40%）、陰性群では23例（48%）であり、HLA-B*5101の有無に関して両群間に有意差は認められなかった。それに対し、視力予後不良症例はHLA-A*2601陽性群では20例（61%）、陰性群では19例（35%）であり、HLA-A*2601陽性群で有意に視力予後不良例が多かった（Fisher's exact probability test: P=0.0262）。

D. 考察

Meguroらは、ベーチェット病300例、正常人300例でのゲノムワイド関連解析の結果、HLA-B*5101以外にHLA-A locusがベーチェット病と関連しており、HLA-A*26の表

現型頻度はベーチェット病で38%、正常人で19.7%であったと報告している⁴⁾。今回の我々の検討は症例数が少ないものの、この報告とほぼ一致した結果であった。また、我々の検討では、HLA-A*2601陽性患者で視力予後不良例が多いと言う結果であった。今回の検討は視力予後を論ずるには症例数が不十分であるため、さらなる検討が必要と考える。

E. 結論

HLA-A*2601はベーチェット病ぶどう膜炎患者で多く、HLA-B*5101とは独立して相関すると考えられた。HLA-A*2601がベーチェット病ぶどう膜炎の視力予後不良のマーカーになる可能性があると考えられた。

参考文献

- 1) Ohno S, Ohguchi M, Hirose S, Matsuda H, Wakisaka A, Aizawa M. Close association of HLA-Bw51 with Behçet's disease. *Arch Ophthalmol* 1982;100:1455-8.
- 2) Mizuki N, Ohno S, Ando H, Chen L, Palimeris GD, Stavropoulos-Ghiokas E, Ishihara M, Goto K, Nakamura S, Shindo Y, Isobe K, Ito N, Inoko H. A strong association between HLA-B*5101 and Behçet's disease in Greek patients. *Tissue Antigens*. 1997;50:57-60.
- 3) Mizuki N, Ota M, Yabuki K, Katsuyama Y, Ando H, Palimeris GD, Kaklamani E, Accorinti M, Pivetti-Pezzi P, Ohno S, Inoko H. Localization of the pathogenic gene of Behçet's disease by microsatellite analysis of three different populations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:3702-8.
- 4) 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*. 2010;69:747-54.

- 5) Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet*. 2010;42:703-6.

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kaburaki T, Takamoto M, Araki F, Fujino Y, Nagahara M, Kawashima H, Numaga J. Endogenous *Candida albicans* infection causing subretinal abscess. *Int Ophthalmol*. 30(5):203-206; 2010
2. Kaburaki T, Araki F, Takamoto M, Okinaga K, Yoshida A, Numaga J, Fujino Y, Kawashima H. Best-corrected visual acuity and frequency of ocular attacks during the initial 10 years in patients with Behçet's disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 248(5):709-714, 2010
3. Kaburaki T, Takamoto M, Numaga J, Kawashima H, Araie M, Ohnogi Y, Harihara S, Kuwata S, Takeuchi F. Genetic Association of HLA-A*2601 with Ocular Behçet's Disease in Japanese Patients. *Clin Exp Rheumatol*. 28

(Suppl.60):S39-S44, 2010

4. 玉島順子、蕪城俊克、高本光子、沖永貴美子、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊: 東京大学眼科における近年のぶどう膜炎統計(2004~2006年). 臨床眼科 64(1):85-90, 2010.
5. 福留みのり、佐々木香る、中村真樹、刑部安弘、蕪城俊克、川崎 勉、川野庸一、出田隆一: リファブチン関連ぶどう膜炎の2例. 臨床眼科64(9);1587-1592, 2010
6. 蕪城俊克: ぶどう膜炎の治療update. 臨床眼科64(8):1239-1242;2010.
7. 國方俊雄、藤野雄次郎、菅野美貴子、野田康雄、蕪城俊克、大鹿哲郎: 非壊死性前部強膜炎に対するトリアムシノロンアセトニド結膜下注射. 臨床眼科64(6):991-996; 2010.

2. 学会発表

1. 中原久恵、蕪城俊克、高本光子、沖永貴美子、吉田 淳、沼賀二郎、藤野雄次郎、新家 眞: インフリキシマブ治療中のベーチェット病患者に対する内眼手術. 第33回日本眼科手術学会. 2010.1. 東京
2. 沖永貴美子、蕪城俊克、高本光子、中原久恵、藤野雄次郎、沼賀二郎、川島秀俊、松原正男、新家 眞: ヘルペスウイルスおよびサイトメガロウイルスによる虹彩炎の臨床像. 第114回日本眼科学会総会. 2010.4. 名古屋
3. 蕪城俊克: 教育講演「サブスペシャリティーサンデー ぶどう膜炎診療の進歩」 4. 生物製剤の使い方. 第114回日本眼科学会総会. 2010.4. 名古屋
4. 田中理恵、蕪城俊克、高本光子、中原久恵、沖永貴美子、吉田 淳、沼賀二郎、辻 英貴: 視力予後不良であった結核性後部強膜炎の1症例. 第44回日本眼炎症学会. 2010.7. 名古屋
5. 吉田 淳、蕪城俊克、沖永貴美子、高本光子、中原久恵、藤野雄次郎、沼賀二郎、川島秀俊: ベーチェット病難治性ぶどう膜炎に対するインフリキシマブ投与治療の評価. 第44回日本眼炎症学会. 2010.7. 東京
6. 中原久恵、蕪城俊克、高本光子、田邊樹郎、吉田 淳、沖永貴美子、沼賀二郎、安藤一彦、藤野雄次郎: 近年の東京大学眼科におけるぶどう膜炎初診患者の原因別頻度. 第64回日本臨床眼科学会. 2010.10. 神戸
7. 澤村裕正、蕪城俊克、白井智彦、高本光子、田邊樹郎、坂田 礼、相原 一、天野史郎: サイトメガロウイルス虹彩炎の再発回数の検討. 第64回日本臨床眼科学会. 2010.10. 神戸
8. 蕪城俊克、高本光子、沼賀二郎、川島秀俊、新家 眞、針原伸二、桑田昇司、大野木由加、竹内二士夫: ベーチェット病ぶどう膜炎とHLA-A26. 第64回日本臨床眼科学会. 2010.10. 神戸
9. 福田玲奈、田邊樹郎、澤村裕正、河田美貴子、蕪城俊克、天野史郎、辻 英貴、小島孚允: 硝子体手術による生検が診断に有用であった肺癌原発の視神経転移性腫瘍の1例. 第64回日本臨床眼科学会. 2010.10. 神戸
10. 相原由季子、宮井尊史、蕪城俊克、柳靖雄、白矢智靖、藤村茂人、川島秀俊、天野史郎: ステロイド局所および全身投与が奏効した後部強膜炎3症例. 第64回日本臨床眼科学会. 2010.10. 神戸
11. 蕪城俊克: ベーチェット病ぶどう膜炎の臨床像と活動性の評価. 第64回日本臨床眼科学会. 2010.10. 神戸