

12. 蕪城俊克：ベーチェット病に対する抗サイトカイン療法. 第60回日本アレルギー学会. 2010.11. 東京

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得

なし

表1. ベーチェット病患者におけるHLA-Aおよび-Bの表現型頻度

	BD	PF (%)	Control	PF (%)	P (Fisher)	Pc
N (cases)	88		104			
A*2601	33	37.5	15	14.4	0.000378	0.00529
A*2602	5	5.7	4	3.8	NS	
A*2603	5	5.7	3	2.9	NS	
A*2605	1	1.1	0	0	NS	
B*5101	41	46.6	19	18.3	3.95x10 <sup>-5</sup>	0.00111
B*5201	12	13.6	30	28.8	0.0139	0.388
A*2601 and B*5101	6	6.8	3	2.9	NS	
A*2601 and/or B*5101	68	77.3	31	29.8	3.65x10 <sup>-11</sup>	1.43x10 <sup>-8</sup>

表2. HLA-B\*5101の有無によるHLA-A\*26の表現型頻度

	B*5101陽性者						B*5101陰性者					
	BD	PF (%)	Cont	PF (%)	P (Fisher)	Pc	BD	PF (%)	Cont	PF (%)	P (Fisher)	Pc
N (cases)	41		19				47		85			
A*2601	6	14.6	3	15.8	NS		27	57.4	12	14.1	3.27x10 <sup>-7</sup>	4.58x10 <sup>-6</sup>
A*2602	3	7.3	0	0	NS		2	4.3	4	4.7	NS	
A*2603	3	7.3	2	10.5	NS		2	4.3	1	1.2	NS	
A*2605	0	0	0	0	NS		1	2.1	0	0	NS	

表3. HLA-B\*5101の有無による患者の臨床データの比較

	HLA-B*5101陰性	HLA-B*5101 陽性	p-value
患者数	47	41	n.s.
男性/女性	36 : 11	35 : 6	n.s.
完全型/不全型	19 : 28	22 : 19	n.s.
観察期間 (年)	16.0±8.2	15.7±7.6	n.s.
発症時年齢	36.1±9.6	32.4±11.2	n.s.
片眼性/両眼性	4 : 43	3 : 38	n.s.
虹彩炎型/網脈絡膜炎型	2 : 45	4 : 37	n.s.
眼症発症から初診までの期間 (年)	5.0±7.5	5.2±6.4	n.s.
初診時視力	0.271±0.151	0.247±0.121	n.s.
最終観察時視力	0.119±0.061	0.148±0.062	n.s.
コルヒチン使用 (あり:なし)	36 : 11	33 : 8	n.s.
プレドニン内服使用 (あり:なし)	22 : 25	20 : 21	n.s.
シクロスポリン使用 (あり:なし)	19 : 28	21 : 20	n.s.
シクロフォスファミド使用 (あり:なし)	7 : 40	6 : 35	n.s.
インフリキシマブ使用 (あり:なし)	4 : 43	2 : 39	n.s.
タクロリムス使用 (あり:なし)	1 : 46	2 : 39	n.s.
メトトレキサート使用 (あり:なし)	2 : 45	1 : 40	n.s.
アザチオプリン使用 (あり:なし)	2 : 45	1 : 40	n.s.

表4. HLA-A\*2601の有無による患者の臨床データの比較

	HLA-A*2601 陰性	HLA-A*2601 陽性	p-value
患者数	55	33	n.s.
男性/女性	44 : 11	27 : 6	n.s.
完全型/不全型	30 : 25	11 : 22	0.0772
観察期間 (年)	16.2±7.7	15.4±8.3	n.s.
発症時年齢	35.0±10.9	33.5±9.8	n.s.
片眼性/両眼性	5 : 50	2 : 31	n.s.
虹彩炎型/網脈絡膜炎型	6 : 49	0 : 33	n.s.
眼症発症から初診までの期間 (年)	5.1±6.5	5.2±7.7	n.s.
初診時視力	0.316±0.153	0.187±0.118	0.0492
最終観察時視力	0.175±0.062	0.0825±0.065	0.0022
コルヒチン使用 (あり:なし)	43 : 12	26 : 7	n.s.
プレドニン内服使用 (あり:なし)	24 : 31	18 : 15	n.s.
シクロスポリン使用 (あり:なし)	26 : 29	14 : 19	n.s.
シクロフォスファミド使用 (あり:なし)	8 : 47	5 : 28	n.s.
インフリキシマブ使用 (あり:なし)	3 : 52	3 : 30	n.s.
タクロリムス使用 (あり:なし)	2 : 53	1 : 32	n.s.
メトトレキサート使用 (あり:なし)	1 : 54	2 : 31	n.s.
アザチオプリン使用 (あり:なし)	2 : 53	1 : 32	n.s.

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

韓国人ベーチェット病患者におけるマイクロサテライト解析とHLA-A\*26の検討

研究分担者 大野 重昭 北海道大学大学院医学研究科医学専攻炎症眼科学講座

研究協力者 堀江 幸弘 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野

北市 伸義 北海道医療大学眼科学分野

目黒 明 横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学

Eun Bong Lee Department of Internal Medicine and  
Graduate Program in Immunology, National Research  
Laboratory of Rheumatic Diseases, Seoul National University  
Hospital, Seoul, Korea

Yeong-Wook Song Department of Internal Medicine and  
Graduate Program in Immunology, National Research  
Laboratory of Rheumatic Diseases, Seoul National University  
Hospital, Seoul, Korea

Kyung Sook Park Department of Biology, College of  
Natural Sciences, Sungshin Women's University, Seoul, Korea

南場 研一 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野

石田 晋 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野

太田 正穂 信州大学医学部法医学

猪子 英俊 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

水木 信久 横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学

研究要旨

近年日本人ベーチェット病患者において23,465個のマイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイド関連解析の結果が報告され、6つのマーカーがベーチェット病と関連すること、そしてHLA-A\*26が新しい疾患関連遺伝子であることが明らかになった [Ann Rheum Dis. 2010; 69: 747]。そこで今回は他民族での再現性を検討するため韓国人ベーチェット病における遺伝子解析を行った。

韓国のソウル国立医科大学内科でベーチェット病と診断されたベーチェット病患者119例、健常対照韓国人141例を対象とし、6つのマイクロサテライトマーカーにおけるfragment解析とHLA-A, -Bタイピングを行いその頻度を比較検討した。

その結果6つのマイクロサテライトマーカーのうちHLA-B遺伝子付近に存在するD 6 S0032iのみが有意差を示した (P=0.028)。HLA-A\*26、-B\*51の表現型頻度がそれぞれ患者群で有意に多くみられた (-A\*26 : P=0.040、-B\*51 : P=0.00064)。

結論として既知のHLA-B\*51に加えHLA-A\*26が韓国人ベーチェット病でも疾患関連遺伝子であることが明らかになった。

## A. 研究目的

横浜市大眼科水木教授のグループが日本人ベーチェット病 (BD) 検体を用いたマイクロサテライトゲノムワイドの研究から6つのマイクロサテライトマーカーがBDの疾患に関連していること、そしてHLA-A\*26が新しい疾患感受性遺伝子の一つであると報告した (Ann Rheum Dis 2010;69:747)。我々は他の民族である韓国人BD検体を用いてこれらの結果の再現性を検討した。

## B. 研究方法

### [対象]

韓国ソウル国立医科大学内科でBDと診断された119例 (男性61例、女性58例) と健常対照者141例の合計260検体である。

### [方法]

末梢血から抽出したDNAを用いて、日本人で関連が指摘された6つのマイクロサテライトマーカー (D3S0186i, D6S0014i, D6S0032i, 536G12A, D12S0645i, D22S0104i) のPCRをおこないfragment解析を行った。HLA-A,Bタイピングをダイレクトシーケンス法にて行った。

### (倫理面への配慮)

本病患者および健常対照者一人一人に対し、本研究の主旨を説明し、遺伝子解析を行なうことに対する同意を得た上で採血を行った。

## C. 研究結果

韓国人ベーチェット病患者の臨床像は、口腔内アフタ性潰瘍が119例全例に見られ、陰部潰瘍が92例 (77.3%)、結節性紅斑などの皮膚症状96例 (80.7%)、眼症状45例 (37.8%)、深部血栓20例 (16.8%)、関節炎が57例 (47.9%) にみられた。

6つのマイクロサテライトマーカーのfragment解析の結果HLA-B遺伝子近傍に存在する1つのマーカー (D6S0032i) のみ有意差がみられた ( $P=0.028$ )。HLA-A,B遺伝子タイピングの結果、患者群の遺伝子頻度はHLA-A\*26が8.5%、-B\*51が23.1%であり、健常対照群の4.3%、11.2%に比較し有意に上昇していた (-A\*26:  $P=0.047$ , OR=2.08, CI=1.00-9.73、-B\*51:  $P=0.00028$ , OR=2.39, CI=1.48-9.23)。また患者群の表現型頻度もHLA-A\*26が16.0%、-B\*51が39.5%であり、健常対照群の7.9%、20.1%に比較し有意に上昇していた (-A\*26:  $P=0.040$ , OR=2.27, CI=1.02-10.28、-B\*51:  $P=0.00064$ , OR=2.59, CI=1.49-9.74)。

## D. 考察

23,465個のマイクロサテライトマーカーを用いた日本人BDにおける結果、6つのマイクロサテライトマーカーが疾患に関連していた。韓国人では6つのうちHLA-B遺伝子近傍に存在するマーカー1つのみ関連が得られた。この結果の違いに関しては更なる文献検索、データ解析が必要と考えられるが、その理由の一つに民族の相違による結果の相違ということがあげられる。これまでBDに限らずさまざまな疾患において新しい疾患感受性遺伝子の発見があっても他民族・他人種で再現性が確認されないことがしばしばみられていたからである。今回の結果もそういったことが関係しているのかもしれない。

次にHLA-A\*26に関してB\*51に比較すると弱い関連であるがやはり日本人同様韓国人でもその関連を再確認することができた。HLA-A遺伝子とBDの研究はこれまでアイルランド人、サウジアラビア人、イスラエル人、パレスチナ・ヨルダン人、トルコ人、日本人、そしてギリシャ人で行われており、トルコ人、

日本人、ギリシャ人ではA\*26が患者で有意に多くみられている。他民族のHLA-Aの結果に関してはHLA-B\*51の影響を除いたうえで再解析を行うか、あるいは検体数を増やすなど更なる検討が必要であると考えた。

またHLA-A\*26とB\*51両方陽性の患者は7例おり健常人に比較し有意におおくみられた(P=0.032)。しかしその臨床症状はその他のBD患者群と比較しても有意な違いはみられなかった。

以上からHLA-A遺伝子はBDに関与していることが最近明らかになっており、今後注目すべき遺伝子のひとつであると考えられる。

## E. 結論

既知のHLA-B\*51に加えHLA-A\*26が韓国人ベーチェット病でも疾患関連遺伝子であることが明らかになった。

## F. 健康危険情報

特記事項なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 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* 42: 703-706, 2010
2. Iwata D, Kitaichi N, Ebihara A, Iwabuchi K, Yoshida K, Namba K, Ozaki M, Ohno S, Umezawa K, Yamashita K, Todo S, Ishida S, Onoé K. Nuclear factor- $\kappa$ B inhibitor,

dehydroxy methyl epoxyquinomicin, ameliorates experimental autoimmune uveoretinitis in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 2077-2084, 2010

3. Iwata D, Kitamura M, Kitaichi N, Saito Y, Kon S, Namba K, Morimoto J, Ebihara A, Kitamei H, Yoshida K, Ishida S, Ohno S, Uede T, Onoé K, Iwabuchi K. Prevention of experimental autoimmune uveoretinitis by blockade of osteopontin with small interfering RNA. *Exp Eye Res* 90: 41-48, 2010
4. Kitaichi N, Kitamura M, Namba K, Ishida S, Ohno S. Elevation of surfactant protein D, a pulmonary disease biomarker, in the sera of uveitis patients with sarcoidosis. *Jpn J Ophthalmol* 54: 81-84, 2010
5. 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's disease inside and outside the MHC. *Ann Rheum Dis* 69: 747-754, 2010
6. 北市伸義、海老原晶子、Stanford MR、岩田大樹、Chams H、大野重昭：東アジア/南アジア地域では若年発症 Behcet病ぶどう膜炎がきわめて少ない。日本眼科学会雑誌 114、394、2010
7. 南場研一、北市伸義、大野重昭：Behcet病。連載<公開講座>炎症性眼疾患の診療26、臨眼 64、630-636、2010

### 2. 学会発表

1. Dong Z, Kitaichi N, Namba K, Ishida S, Ohno S. Ocular complications and visual prognosis of endogenous uveitis in Japan. 25th Asia Pacific Academy

- of Ophthalmology Congress-A Joint Meeting of APAO/AAO: Beijing, China; 2010/9/16-20
2. Ohno S. Symposium :Challenges in Diagnosis and Treatment of Behcet's and Other Vasculitis Entities: Topic: Clinical features of ocular vasculitis entities. 25th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress-A Joint Meeting of APAO/AAO: Beijing, China; 2010/9/16-20
  3. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H, Ohno S. Genome-wide association studies define two susceptibility loci for Bechet's disease. 14th ICBD (International Conference on Behçet's Disease): London, United Kingdom; 2010/7/8-10
  4. Iwata D, Ebihara A, Kitaichi N, Namba K, Ohno S, Iwabuchi K, Onoé K, Ishida S. Effect of sufatide, a ligand for a subset of NKT cells, in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in mice. WOC (World Ophthalmology Congress): Berlin, Germany; 2010/6/5-9
  5. Kitaichi N, Kitamura M, Ishida S, Ohno S. Elevation of surfactant protein D, a pulmonary disease biomarker, in the sera of uveitis patients with sarcoidosis. ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology) Annual Meeting: Fort Lauderdale, USA; 2010/5/2-6
  6. Lennikov A, Kitaichi N, Kase S, Ishida S, Ohno S. Amelioration of UVB-induced photokeratitis in mice by heat shock protein 70 upregulation. ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology) Annual Meeting: Fort Lauderdale, USA; 2010/5/2-6
  7. Ohno S. Invited Lecture Global epidemiology of Behcet's disease. Malattie Rare in Reumatologia: Focus Sulla Malattia di Behcet Dipartimento di Reumatologia della Regione Basilicata: Auditorium, Ospedale San Carlo, Potenza, Repubblica Italiana; 2010/11/13
  8. Ohno S. Recent clinical pictures of Behcet's disease in Japan. Japan-Korea International Symposium in Ophthalmology: Sapporo, Japan; 2010/11/9
  9. Ohno S. Clinical features of ocular vasculitis entities. Symposium; Challenges in diagnosis and treatment of Behcets and other vasculitis entities. The 25th APAO (Asia-Pacific Academy of Ophthalmology): Beijing, China; 2010/9/16
  10. Ohno S, Namba K. Corticosteroid therapy of uveitis and intraocular inflammation. Uveitis Seminar at Eye and ENT Hospital, Fudan University School of Medicine: Shanghai, China; 2010/9/15
  11. Ohno S, Kitaichi N. Diagnosis of uveitis frequently seen in Asia. Uveitis Seminar at Eye and ENT Hospital, Fudan University School of Medicine: Shangahai, China; 2010/9/14
  12. Ohno S. Recent Advances in the Management of Bechet's Disease. 12th National Congress and 35th Annual Scientific Meeting of Indonesian

- Ophthalmologist Association: Semarang, Indonesia; 2010/7/23-26
13. Ohno S, Stanford M. Debate-Geographical differences in BD. 14th ICBD (International Conference on Behçet's Disease): London, United Kingdom; 2010/7/8-10
  14. Ohno S: Behcet's disease. Asia Pacific Intraocular Inflammation Study Group Symposium; Uveitis Which One Should Not Miss. WOC (World Ophthalmology Congress): Berlin, Germany; 2010/6/8
  15. 岩田大樹、南場研一、水内一臣、北市伸義、大野重昭、石田 晋. ベーチェット病に対するインフリキシマブ治療中の抗核抗体価上昇と効果減弱例の検討. 第64回 臨床眼科学会、神戸、2010/11/11-14
  16. 水内一臣、南場研一、岩田大樹、齋藤航、北市伸義、大野重昭、石田 晋. ぶどう膜炎にみられた脈絡膜新生血管の臨床像. 第64回 臨床眼科学会、神戸、2010/11/11-14
  17. 水木信久、目黒 明、太田正穂、大野重昭、Yeong Wook Song、杉田 直、望月 學、猪子英俊. 全ゲノム網羅的相関解析によるベーチェット病感受性遺伝子の検索. 第64回 臨床眼科学会、神戸、2010/11/11-14
  18. 石田 晋、永井香奈子、大野重昭. Astaxanthin is anti-inflammatory in preventing choroidal neovascularization. 第6回 アスタキサンチン研究会、東京、2010/9/3
  19. 岩田大樹、南場研一、北市伸義、大野重昭、石田 晋. インフリキシマブとシクロスポリン治療のベーチェット病眼発作回数比較. 第44回 眼炎症学会、東京、2010/7/9-11
  20. 北市伸義、董 震宇、南場研一、石田 晋、大野重昭. 3大ぶどう膜炎の眼合併症と予後の検討. 第44回 眼炎症学会、東京、2010/7/9-11
  21. 北市伸義、大神一浩、石田 晋、大野重昭. 実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎に対する抗VEGF抗体硝子体内投与の有効性. 第114回 日本眼科学会、名古屋、2010/4/15-18
  22. 大野重昭. 特別講演 血管炎を呈する眼病変. 第3回セミナー西関東血管炎フォーラム、東京、2010/10/28
  23. 大野重昭. 特別講演 炎症性眼疾患研究の過去と未来. 第9回札幌医科大眼科講演会、札幌、2010/10/9
  24. 大野重昭. 特別講演 機能性食品による疾患の予防と緩和. 第1回北海道フードインフォマティクス研究会セミナー、札幌、2010/9/7
  25. 大野重昭. 前回の振り返りと本邦におけるベーチェット病治療の現状と課題. 第2回ベーチェット病眼疾患ミーティング、名古屋、2010/4/15
- H. 知的財産権の出願、登録状況**
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## 厚生労働科学研究補助金

### ペーチェット病の補助診断としての自家唾液反応の有用性の評価

研究分担者 中村晃一郎 埼玉医科大学皮膚科

研究協力者 金子 史男 南東北総合病院アレルギー免疫研究所

#### 研究要旨

ペーチェット病（B病）の症状は口腔内アフタ性潰瘍から始まることが多く、典型例では診断が容易であるが、非典型例では診断に苦慮する症例がある。B病の患者の口腔内細菌叢では *S. sanguinis* を含むレンサ球菌群が多く、これらに対する遅延型反応を示すことが明らかにされている。自家唾液に含まれる *S. sanguinis* に対する過敏反応を検出する目的で、自家唾液に対するプリック反応の有用性を検討した。その結果、B病で強反応を示す症例が認められた。自家唾液をフィルターで除去するとその反応の減弱を示す症例が存在した。細菌培養では自家唾液中に *S. sanguinis* が存在し、フィルター下でその存在が除去された。これらの結果は自家唾液反応が *S. sanguinis* に対する反応であることを示唆しており、また本テストがB病診断の簡便法としての診断の参考になる可能性を示していると考えられる。

#### A. 研究目的

ペーチェット病（B病）は、口腔内アフタ、陰部潰瘍、眼症状に、皮膚症状（結節性紅斑、毛囊炎、針反応陽性）を呈する多臓器難治性疾患である。本症の発症機序は不明であるが、病態として、HLA-B51をはじめとする遺伝背景、さらに環境因子として口腔内常在菌としての *streptococcus sanguinis* (*S. sanguinis*) をはじめとするレンサ球菌の関与が報告されている。これまでB患者にレンサ球菌を用いた皮内テストを施行すると紅斑、膿疱を生じることが報告されており、常在菌であるレンサ球菌に対する過敏反応がB病の発症・増悪に関与する可能性が考えられる。すなわちB病では針反応に対する過敏反応があり、さらに上記の常在菌に対する過敏反応を示すと考えられる。このような皮膚の過敏反応はB病の早期の診断にきわめて有用であると考えられる。そこでこれらの自家唾液を用いて早期診断に有意義であるかを試みた。

#### B. 研究方法

自家唾液によるレンサ球菌の確認を培養で行った。次にB病（神経B病、不全型、完全型を含む）、および再発性口内炎、結節性紅斑、健常人で自家唾液反応（プリックテスト）を施行し、48時間後に紅斑、膿疱の有無について検討した。

#### C. 研究結果

自家唾液をMS培地 (*S. mitis* and *S. salivarius* agar) を用いてB病患者の自家唾液を培養した。培養によってレンサ球菌 (*S. Sanguinis*) を認めた。さらにミリポアフィルター (0.2  $\mu$  m filter) を通過させて培養するとレンサ球菌コロニーが生じないことを確認した。(図1)

B病患者(10名)で自家唾液を用いたプリック反応を施行した。5名で直径10mm以上の紅斑および穿刺部位での小膿疱を認めた。いっぽう通常の結節性紅斑、再発性口内炎では、7名中2名で直径8mmの紅斑を認めた。健常人では紅斑を認めなかった。また



B病における紅斑は、自家唾液をあらかじめミリポアフィルターで処理することで、自家唾液反応で陽性反応を示したB病中3名が小さな点状反応を示した(図2)。

#### D. 結論

B病の自家唾液には、磯貝らの報告で示されるように、レンサ球菌 (*S. sanguinis*) が優位に存在することが確認された。さらにB病に含まれる*S. Sanguinis*を用いた自家唾液プリック反応を試みたところ、B病で強い自家唾液反応を示した症例が存在した。すなわち自家唾液中に含まれるレンサ球菌に対する過敏反応を生じる機序が推定された。これらの結果は、自家唾液プリック反応はレンサ球菌に対するプリック反応の診断の簡便性として利用できる可能性を示していると考えられた。

#### E. 参考文献

1. Mizushima Y, Matsuda T, Hoshi K, Ohno S: Induction of Behcet's disease symptoms after dental treatment and streptococcal antigen skin test. *J Rheumatol* 15:1029-1030, 1988
2. Mizuki N, Ota M, Kimura M, et al.: Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: a strong association of six GCT repetitions with Behcet's disease, *Proc Natl Acad Sci USA* 58: 181-184, 1997
3. Yanagihori H, Oyama N, Nakamura K, Mizuki N, Oguma K, Kaneko F: Role of IL-12B promoter polymorphism in Adamantiades-Behcet's disease susceptibility: An involvement of Th1 immunoreactivity against *Streptococcus sanguinis* antigen. *J Invest Dermatol* 126:

1534-1540, 2006

4. Kaneko F, Oyama N, Yanagihori H, Isogai E, Yokota K, Oguma K: The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behcet's disease. *Eur J Dermatol* 18:489-498, 2008

#### F. 健康危機情報：なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 中村晃一郎。ベーチェット病。p970, 今日の治療指針2010、医学書院。
2. 金子史男、斎藤早苗、富樫亜吏、尾山徳孝、中村晃一郎。ベーチェット病の補助診断としての自家唾液反応によるプリック反応。日本皮膚学会雑誌。120(9): 1901-1905, 2010.
3. Kaneko F, Togashi A, Saito S, Sakuma H, Oyama N, Nakamura K, Yokota K, Oguma K. Behcet disease(Adamantiades- Behcet disease). *Clinical and Developmental Immunology*. 2010. in press.

##### 2. 学会発表

1. Nakamura K, Kanko F. Prick test with self-saliva as an auxiliary diagnostic measure in Behcet's disease. 14th International Conference on Behcet's Disease. London. July 8th, 2010.

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

図1. 自己唾液におけるStreptococcusの増殖の比較 (ミリポアフィルター前処置との比較)



図2. Prick tests in patients with aphthous ulceration and controls

Patients	S-prick (after 48 h)	small pustule	SS-prick	CS-prick
Neuro BD 55 M	11x15mm	+	nd	-
Incomplete 33 F	22 x 22	-	-	-
26 F	10x10	+	+ dot	-
27 M	11x 12	+	+ dot	-
47 M	10x 13	+	+ dot	-
36 F	5x10	-	nd	-
46 M	10x10	-	-	-
17 F	5x5	-	-	-
34 F	6x 14	-	-	-
Complete 23 M	10x 10	+	-	-
Recurrent aphthosis				
24 F	8x10mm	-	-	-
28 F	8x4	-	-	-
32 F	-	-	nd	-
29 M	-	-	nd	-
28 F	3x5	-	-	-
Disease controls				
non BD EN 39 F	-	-	nd	-
61 F	-	-	-	-
viral aphthosis (3)	-	-	nd	-
Healthy controls (6)	-	-	-	-

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担報告研究

抗菌ステロイドCSA-13によるバイオフィルム阻害活性-ベーチェット病患者由来  
口腔ストレプトコッカスを用いた検討

研究分担者 磯貝恵美子 東北大学農学研究科動物微生物学教室  
研究協力者 佐藤 一樹 東北大学農学研究科動物微生物学教室  
磯貝 浩 札幌医科大学医学部実験動物施設  
大野 重昭 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野  
北市 伸義 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野  
南場 研一 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野  
小熊 恵二 岡山大学医学部細菌学教室  
金子 史男 福島県立医科大学医学部皮膚科  
P. B. Savage Univ. of Education, Brigham Young University

研究要旨

カセリシジンファミリーに属するCAP18/LL-37は異物処理の最初の防御壁となる自然免疫機構における抗菌物質として重要であることが報告されてきた。我々は治療薬候補として新規に開発したカチオン性ステロイド抗菌剤CSA-13がCAP18/LL-37と同等の抗菌活性を持つことを報告した。バイオフィルム形成阻害活性について、う蝕の原因細菌である*Streptococcus mutans*に対して著明なバイオフィルム形成阻害活性を示すことを報告した。本研究ではベーチェット病患者由来口腔ストレプトコッカスに対してのバイオフィルム形成阻害活性を調べた。*Streptococcus oralis* BD113-20を使用した時、ハイドロキシアパタイト（HA）コートなしの郡ではHAへの付着菌数は $5.1 \times 10^5$ であったのに対して、CSA-13コート郡では検出限界以下であった。同様に、*S. sanguinis* BD118-1を使用した時、ハイドロキシアパタイト（HA）コートなしの郡でHAへの付着菌数は $6.6 \times 10^5$ であったのに対して、CSA-13コート郡では検出限界以下であった。培養経過中の菌の濁度は有意にCSA-13コート郡で阻害された。また、歯科用セメントに混ぜることでCSA-13はバイオフィルム形成阻害や増殖抑制活性を示した。CSA-13は口腔細菌叢を制御するのに有用であることが示された。さらに、優れた安定性があるため、様々な歯科材料への応用が可能であることがわかった。

A. 研究目的

口腔は消化管の最初の門戸として、様々な病原微生物に対する防御を担っていると考えられている。一方で、口腔内には多種多様の常在細菌が生息している。これらは口腔の硬組織である歯面や軟組織である舌や頬粘膜へ

付着し、独自のフローラを形成している。上皮細胞から分泌される抗菌ペプチドCAP18/LL-37は口腔病原細菌に対して抗菌作用を示すことを報告した。抗菌作用としてはベーチェット病（BD）患者由来の口腔ストレプトコッカスに対しても強い抗菌活性を示し

た。その時の結合サイトはリポタイコ酸(LTA)であった。抗菌ペプチドは治療薬として有用な多くの活性を持つが安定性に問題があるだけでなく、その合成には高額な費用を必要とする。そこで、合成に費用がかからず生体でも有効に作用する創薬が期待された。

カチオン性合成ステロイドとして新規に開発されたCSA-13の生物活性を抗菌ペプチドCAP18/LL-37と比較するとよく似た活性を示す。これは分子構造が異なっても同レベルのカチオン性と膜を貫通する疎水性分子を持つならば同様の活性が表れるという仮説に基づくものであった。カーペット理論によれば、CAP18/LL-37はネガティブにチャージした膜に結合し、疎水性分子によって膜にポアを形成すると考えられている。ステロイド抗菌剤は合成が容易であり、生体内での酵素による分解に抵抗性する。我々はCSA-13が強力なプロテアーゼ活性を持つ歯周病原細菌にも強い作用を持つことを明らかにした。

本研究では口腔フローラを効果的に制御する目的で、CSA-13によるバイオフィーム形成阻害実験をパーチェット病患者由来口腔ストレプトコッカスを用いて調べた。

## B. 研究方法

CSA-13をハイドロキシアパタイト (APP-101, 1 X 1 X 0.2cm, ペンタックス, HA) にコートした場合としない場合での、パーチェット病患者由来株である *Streptococcus oralis* および *S. sanguinis* のバイオフィーム形成を比較した。HAに付着・定着している細菌数の算定はそれぞれの菌株をHAブロック入りBHI培養液中で37度C, 48時間培養後、ジルコニアビーズによって付着細菌をはがし、菌数を算定した。すなわち、この細菌浮遊液を固形培地に摂取し、コロニーをカウントすることで1HAブロック (表面性2.8cm<sup>2</sup>) あたりの菌

数を求めた。さらに、ブロック存在下で培養した場合の増殖への影響を検討した。

## C. 研究結果

CSA-13は著明なバイオフィーム形成阻害活性を示した。*S. oralis* BD113-20を使用した時、CSA-13コートなしの郡ではHAあたりの付着菌数は5.1X10<sup>5</sup>であったのに対して、CSA-13コート郡では検出限界以下であった (P<0.01、表1)。同様に、*S. sanguinis* BD118-1を使用した時、CSA-13コートなしの郡では付着菌数は6.6X10<sup>5</sup>であったのに対して、CSA-13コート郡では検出限界以下であった (P<0.01)。また、*S. oralis* BD113-20 および *S. sanguinis* BD118-1それぞれの培養経過中の細菌増殖は有意にCSA-13コート郡で阻害された (表2、P<0.01)。

CSA-13は優れた安定性があるため、様々な歯科材料への応用が可能であると考え、歯科用セメントに混ぜてHAブロックと同じ形状のセメントブロックを作成し、同様の実験を行った。結果として、CSA-13は著明なバイオフィーム形成阻害活性を示した (P<0.01)。また、培養経過中の菌の濁度は有意にCSA-13コート郡で阻害された (P<0.01)。

## D. 考察

本研究ではCSA-13がパーチェット病患者由来口腔ストレプトコッカスに対してのバイオフィーム形成阻害活性と増殖抑制を示すことを明らかにした。この結果は、*S. mutans* を用いた実験で得られた結果と同様のものであった。これまで、カセリシジンファミリーの抗菌ペプチドは実験的ブドウ膜炎を抑制することなどからパーチェット病治療に有用であることを報告した。CAP18/LL37活性ドメイン領域の合成ペプチドはこれまでの治療薬による副作用や耐性菌や耐性細胞の出現を抑

制するための新しい治療戦略をめざしものである。しかし、最大のウィークポイントは治療薬として応用する際、きわめて高価となることであった。さらにペプチドであるためプロテアーゼによる分解のリスクがあり、安定性の問題をクリアせねばならなかった。ペーチェット病患者由来株に対してCSA-13がバイオフィーム阻害活性を示したことは臨床の現場で患者口腔細菌叢の改善に貢献する可能性を示している。

バイオフィーム形成に際して、歯科材料をコーティングせずともCSA-13含有セメントを使用することで、とくにプラークが形成しやすい部位などに使用することで一定の成果が挙げられるかもしれない。増殖抑制の実験から除放性にCSA-13が放出され続け、一定の期間口腔の制御に効果を示すと考えられた。

## E. 結論

CSA-13はペーチェット病患者由来口腔ストレプトコッカスのバイオフィーム形成阻害活性を示した。また、除放性にCSA-13は放出され続け、一定の期間口腔の制御に効果を示すと考えられた。

## F. 健康危険情報

特記事項なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

原著

1. Isogai H, Mulu A, Diro E, Tekleselassie H, Kassu A, Kimura K, Nishikawa T, Isogai E, Identification of *Candida* species from human immunodeficiency virus-infected patients in Ethiopia by combination of CHROMagar, Tobacco agar and PCR of amplified internally

transcribed rRNA spacer region. J Appl Res, 10 (1), 2-8, 2010

2. Ito A, Isogai E, Yoshioka K, Sato K, Himeno N, Gotanda T, Ability of orally administrated IFN- $\alpha$ 4 to inhibit naturally occurring gingival inflammation in dogs. J Vet Med Sci, 72(9), 1145-1151, 2010

3. Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Holen I. Osteoprotegerin induces cytoskeletal recognition and activates FAK, Src and ERK signaling in endothelial cells. European J Haematol 85, 26-35, 2010

4. Isogai E, Isogai H, Okumura K, Hori H, Tsuruta H, Kurebayashi Y. Tertiary structure-related activity of tick defensin (persulcatusin) in the taiga tick, *Ixodes persulcatus*. Exp Appl Acar, 53, 71-77, 2010

5. Kitagawa R, Takaya A, Ohya M, Mizunoe Y, Takade A, Yoshida S, Isogai E, Yamamoto T. Biogenesis of Salmonella enteric Serovar Typhimurium membrane vesicles provoked by induction of pagC. J Bacteriol, 192: 5645-5656, 2010

6. Mulu A, Diro E, Tekleselassie, Belhyhun Y, Anagaw B, Alemayehu M, Gelaw A, Biadlegne F, Desalegn K, Yifru S, Tiruneh M, Kassu A, Nishikawa T, Isogai E. Effect of Ethiopian multiflora honey on fluconazole resistant *Candida* species isolated from the oral cavity of AIDS patients, International J STD & AIDS, 21,1-5, 2010

7. Isogai E, Hori H, Ando T, Yoneyama H, Isogai H, Okumura K. Antimicrobial agents for protection and treatment against oral infectious diseases. Res Adv Antimicrob Agents Chemother, 1: 1-8,

2010

8. Kakudate N, Morita M, Fukuhara S, Sugai M, Nagayama M, Isogai E, Kawanami M, Chiba I, Development of the outcum expectancy scale for self-care among periodontal disease patients. *J Evaluation Clin Practice*, in press, 2010
9. Hori H, Ando T, Isogai E, Yoneyama H, and Katsumata R. Identification of an L-alanine export system in *Escherichia coli* and isolation and characterization of export deficient mutants. *FEMS Microbiol Lett*, in press, 2010

#### 著書

1. 磯貝恵美子:ライム病、動物病理学各論、文永堂出版、p. 464, 2010
2. 磯貝恵美子:犬のライム病、動物の感染症(第3版)、in press, 近代出版、2010

#### 総説

1. Isogai E, Hori H, Ando T, Yoneyama H, Isogai H, Okumura K. Antimicrobial agents for protection and treatment against oral infectious diseases. *Res Adv Antimicrob Agents Chemother*, 1: 1-8, 2010

#### 2. 国際学会発表

1. Ohno S, Isogai E, Isogai H, Kaneko F, Namba K, Sato K, Kitaichi N. Why

dose Behcet's disease decline in Japan- Possible association between economic development and decreased risk of Behcet's disease. 14<sup>th</sup> International Conference of Behcet's disease. 8<sup>th</sup>-10<sup>th</sup> July, 2010, London

2. Okumura K, Sawada N, Isogai E, Kobayashi-Sakamoto M, Taira H, Shibata T, Isogai H. A human cathelicidin hCAP18 inhibits tube formation in endothelial cells. IADR July 14-17, 2010 Barcelona, Spain
3. Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Hirose K, Holen I, Chiba I. Characterization of osteoprotegrin-induced signaling in human endothelial cells. IADR July 14-17, 2010 Barcelona, Spain
4. Kobayashi D, Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Chiba I. Inhibition of angiogenesis and cell proliferation by royal jelly- Inhibition of transforming growth factor-beta production by royal jelly in endothelial cells and periodontal ligament fibroblasts- IADR July 14-17, 2010 Barcelona, Spain

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

特になし

表1. CSA-13によるハイドロキシアパタイト (HA) 上のバイオフィーム形成阻害作用

HA coated with	Number of <i>S. oralis</i> BD113-20 per a HA
CSA-13	< 1.1 X 10
-	(5.1 ± 1.2) X10 <sup>5</sup>

HA coated with	Number of <i>S. sanguinis</i> BD118-1 per a HA
CSA-13	< 1.1 X 10
-	(6.6 ± 2.0) X10 <sup>5</sup>

それぞれの菌のHA (ハイドロキシアパタイト) への付着能は *S. mutans* の約2倍であるが、CSA-13はこの付着を阻害した。

表2. CSA-13をコートしたハイドロキシアパタイト (HA) とともに培養したときの *S. oralis* および *S. sanguinis* の増殖抑制

Group	Culture with <i>S. oralis</i> BD113-20	OD in BHI medium
HA coated with CSA-13	+	0.295 ± 0.179 <sup>a</sup>
HA	+	0.681 ± 0.084 <sup>b</sup>
Medium only	+	0.506 ± 0.045
Background	-	0.062 ± 0.002

Group	Culture with <i>S. sanguinis</i> BD118-1	OD in BHI medium
HA coated with CSA-13	+	0.182 ± 0.090 <sup>a</sup>
HA	+	0.862 ± 0.298 <sup>b</sup>
Medium only	+	0.307 ± 0.073
Background	-	0.062 ± 0.002

a. P<0.01, paired *t* test, significant inhibition

b. P<0.01, paired *t* test, significant enhancement

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

ベーチェット病とインフラマソームに関する研究

研究代表者 石ヶ坪良明 横浜市立大学免疫病態制御内科学  
研究協力者 寒川 整 横浜市立大学病態免疫制御内科  
桐野 洋平 横浜市立大学病態免疫制御内科  
上田 敦久 横浜市立大学病態免疫制御内科  
岳野 光洋 横浜市立大学病態免疫制御内科  
水木 信久 横浜市立大学眼科  
Kastner DL Genetics and Genomics Section NIH/NIAMS  
Remmers E Genetics and Genomics Section NIH/NIAMS

研究要旨

自己炎症性症候群の代表疾患である家族性地中海熱は好発地域がトルコであることやコルヒチンが有効といった点でベーチェット病と共通点がある。また同疾患の原因遺伝子であるMEFV遺伝子の変異はベーチェット病の感受性遺伝子である可能性が示唆されている。

本研究ではMEFV遺伝子産物であるpyrinがベーチェット病の病態に影響し、さらにコルヒチンの作用点になっていると考え、pyrinの機能解析を進めた。また同時にベーチェット病患者におけるMEFV遺伝子の変異保有率を調べた。Pyrinの機能解析の結果、pyrinと結合する新規タンパクとして $\beta$ 2microglobulinを同定した。また $\beta$ 2microglobulinは家族性地中海熱患者で変異を認めるpyrinのB30. 2領域に結合していることが明らかになった。

またNIHと共同で日本人・トルコ人のベーチェット病患者についてMEFV遺伝子変異を調べたところトルコ人においてMEFV遺伝子の変異M694Vはベーチェット病罹患のリスクになることが明らかになった。

A. 研究目的

自己炎症性症候群はインフラマソームの機能異常により発症し、臨床症状に口腔内アフタ・ぶどう膜炎・陰部潰瘍・針反応陽性などを呈することからベーチェット病の類縁疾患とする説もある。中でも自己炎症性症候群の代表疾患である家族性地中海熱はトルコを中心とする地中海地方に好発し、コルヒチンが有効であることから特にベーチェット病と関連性が推測されている。

家族性地中海熱は16番染色体にあるMEFV

遺伝子の変異によって発症する常染色体劣性遺伝疾患であり、このMEFV遺伝子の変異はベーチェット病患者、中でも血管病変を有する患者に保有率が高いとする報告がある。

以上のことから我々はMEFV遺伝子産物であるpyrinがベーチェット病の病態に関与していると考えており、pyrinの機能解析を行うことでベーチェット病の病因およびコルヒチンの作用機序解明を目的としている。



## B. 研究方法

### 1. Pysinの機能解析

Pysinの機能解析として結合タンパクのスクリーニングをyeast two hybrid法および免疫沈降法により行った。

Yeast two hybrid法では酵母はAH109株を用い、転写因子はGAL4を利用した。baitには全長のpyrinとB30.2領域のみのpyrinをそれぞれ用い、preyにはヒト白血球cDNAライブラリーを用いた。baitプラスミドとpreyプラスミドの両者を形質転換した酵母のうち、GAL4のレポーター遺伝子であるHIS3、ADE2、MEL1すべてを発現しているクローンを陽性クローンとした。全長pyrin、B30.2 pyrinの両者のbaitで陽性でタンパクについて免疫沈降法でpyrinとの結合を確認した。

免疫沈降法はC末端にflagタグを付したpyrin、C末端にT7タグを付したスクリーニングタンパクをchinese hamster ovary細胞にFuGeneHDを用いてlipofectionを行い24時間後に免疫沈降によりタンパク結合を確認した。Pysinとの結合領域決定には全長pyrin、exon2～10、exon3～10、exon4～10、exon10、exon1～9のそれぞれのpyrinを用いて上記と同様にして免疫沈降法で結合部位を同定した。

### 2. MEFV遺伝子の変異解析

国際ベーチェット病診断基準を満たした日本人BD患者 (n=370) および健常人 (n=396) とトルコ人BD患者 (n=1175) および健常人 (n=1268) の検体を用いて、MEFVの代表的な変異・多型であるE148QとM694V/Iを調べた。

また当施設において不明熱やベーチェット病の症状を呈する患者のMEFV遺伝子変異についても解析を行った。

## 3. ベーチェット病感受性

### copy number variationの検索

上記実験で用いたDNA検体の中からトルコ人ベーチェット病患者検体を用いてcopy number variationのホモ欠損を認める遺伝子を検索した。その結果得られた各遺伝子についてトルコ健常人のcopy numberと比較し、両者のホモ欠損率に有意差を認めるcopy number variation領域を検索した。さらにトルコ人検体で有意差を認めたcopy number variation領域について日本人、韓国人、ギリシア人に関しても保有率の差を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析については当施設の倫理委員会の承認の元行い、検体の収集に当たっては被験者に研究内容について十分な説明を行った上で書面による同意を得ている。検体の管理に関しては検体台帳を非連結・施設下で保管し、被験者の匿名性を確保している。

## C. 研究結果

### 1. Pysinの機能解析

上記手法によりyeast two hybridによる結合タンパクスクリーニングの結果、全長pyrin、B30.2pyrinに共通して結合するタンパクを9種類同定した (表1参照)。これら9種類のタンパクについて免疫沈降法によりタンパク結合を確認したところ $\beta$ 2microglobulinの結合を確認した。さらに $\beta$ 2microglobulinのpyrin結合部位を免疫沈降法によって検索した結果、家族性地中海熱で変異を認めるB30.2領域での結合を確認することができた (図1参照)。

### 2. MEFV遺伝子の変異解析

MEFV遺伝子exon2にあるE148Q多型は日本人のベーチェット病患者に多い傾向を認めしたが、トルコ人では有意差を認めなかった。

またexon10に認められるM694V変異に関してはトルコ人のベーチェット病患者での保有率が有意に高かった(表2参照)

### 3. ベーチェット病感受性

#### copy number variationの検索

トルコ人ベーチェット病患者検体でホモ欠失領域を218ヶ所同定した。それぞれについて健常トルコ人と保有率を比較した、2領域について有意差を認めた。さらに日本人・韓国人・ギリシャ人検体を用いて同領域のcopy number variationを調べたところLEPREL1 intron1について有意差を認めた(表3参照)

### D. 考察

今回我々はpyrinのB30.2領域に結合するタンパクとして $\beta$ 2microglobulinを同定した。また同時にトルコ人患者においてMEFV遺伝子のpyrin B30.2領域の変異がベーチェット病罹患のリスクであることも確認することができた。これらのことからpyrinはベーチェット病の発症・病態に関与している可能性が高い。このpyrinと $\beta$ 2microglobulinの結合が家族性地中海熱およびベーチェット病にどのように関与しているかは現時点では不明である。しかしながらベーチェット病のリスクとしてHLA-B51やHLA-A26の保有は以前より報告されており、 $\beta$ 2microglobulinはMHCクラスI分子と結合することから今後の結果によってはHLAの表現型とベーチェット病の発病の関連が説明できる可能性がある。また $\beta$ 2microglobulinは好中球の顆粒内にも認められ、この $\beta$ 2microglobulinの機能は不明であり、pyrinが顆粒内の $\beta$ 2microglobulinの機能に関与している可能性もある。そしてコルヒチンは炎症性疾患の中でも痛風、家族性地中海熱、ベーチェット病といった限られた疾患に対してしか有効性が確立していないこと

からpyrin- $\beta$ 2microglobulin結合によるシグナル伝達の周辺にコルヒチンの作用点があるものと考えられる。

またcopy number variation解析ではLEPREL1 intron1領域のホモ欠損がベーチェット病に対して保護的に働いていることを示すことができた。これは多因子疾患であるベーチェット病の病因を解析していく上で、遺伝子の多型・変異のみでなくcopy number variationも考慮していく必要があることを示している。

### E. 結論

我々はpyrin B30.2領域と $\beta$ 2microglobulinの結合を証明し、トルコ人患者においてpyrin B30.2領域の変異がベーチェット病のリスクとなることを示した。しかしながらpyrinがベーチェット病の発症にどのように関与するかは明らかにすることができなかった。

トルコ人においてはMEFV遺伝子のM694V変異がベーチェット病のリスクとなることを示した。またトルコ人、日本人、韓国人、ギリシア人に関してはLEPREL1遺伝子intron1のホモ欠損率がベーチェット病患者に優位に低いことが明らかになった。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

原著

1. Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Kirino Y, Ihata A, Ueda A, Ohno S, Baba Y, Kuroiwa Y, Ishigatsubo Y. Neurological manifestations of Behçet's disease in Japan: a study of 54 patients. *J Neurol*. 2010 Jun.
2. Ideguchi.H, Suda.A, Takeno.M, Ueda. A, Ohno.S, Ishigatsubo.Y. Chronological manifestations in Japanese patients

with Behçet's disease: Retrospective cohort study in two university hospitals. Medicine in press.

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-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. Nat Genet. 2010 Aug
4. Remmers EF, Cosan F, Kirino Y, Ombrello MJ, Abaci N, Satorius C, Le JM, Yang B, Korman BD, Cakiris A, Aglar O, Emrence Z, Azakli H, Ustek D, Tugal-Tutkun I, Akman-Demir G, Chen W, Amos CI, Dizon MB, Kose AA, Azizlerli G, Erer B, Brand OJ, Kaklamani VG, Kaklamani P, Ben-Chetrit E, Stanford M, Fortune F, Ghabra M, Ollier WE, Cho YH, Bang D, O'Shea J, Wallace GR, Gadina M, Kastner DL, Gül A. Genome-wide association study identifies variants in the MHC class I, IL10, and IL23R-IL12RB2 regions associated with Behçet's disease. Nat Genet. 2010 Aug

#### 国内雑誌

1. 石ヶ坪良明：【膠原病 新たな治療戦略】  
膠原病類縁疾患 ベーチェット病(解説／  
特集) 臨牀と研究 87巻9号
2. 岳野光洋, 石ヶ坪良明【関節リウマチ(第  
2版) 寛解を目指す治療の新時代】関  
節リウマチの類縁疾患とその鑑別診断  
Behcet病(解説／特集) 日本臨牀68巻増  
刊号5 p602-605 2010
3. 岳野光洋, 石ヶ坪良明【Emergency 実戦

ガイド】疾患と対応 膠原病 Behcet  
病(特殊型、腸管型) 内科103巻6号  
p1482-1487 2010

#### 和文著書

石ヶ坪良明：今日の治療指針 ベーチェッ  
ト病 746-748, 2011年度版

#### 2. 学会発表

##### 国際学会

1. Ishigatsubo Y. Genetics of Behcet's disease.  
Korean Japan Joint Symposium. Korean  
Japan Joint Symposium. Seoul,2010.Nov

#### G. 知的財産権の出願、登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

表 1.

陽性タンパク名	全長	B30.2
ferritin, heavy polypeptide 1 (FTH1)	5	1
eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1 (EEF1A1)	14	1
tumor protein, translationally-controlled 1 (TPT1)	2	1
cytochrome c oxidase subunit Va (COX5A)	1	1
cytochrome b-245, alpha polypeptide (CYBA)	1	2
beta-2-microglobulin (B2M)	2	2
Actin(ACTB)	3	1
Flotillin1 (FLOT1)	2	1
Lymphotoxin beta (LTB)	2	2

図 1.

Pyrin/TRIM20 結合タンパクの検索  
結合部位の同定

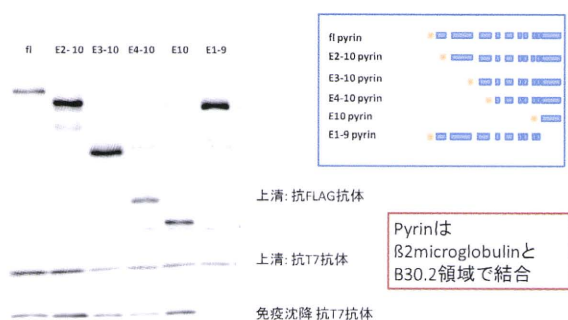


表 2. MEFV遺伝子解析結果

E148Q

Series	Diagnosis	Subject n	C	G	MAF%	OR (95% CI)	P value
Turkish	BD	1175	123	2227	5.2	1.04	0.72
	Control	1268	127	2409	5.0	(0.48-0.82)	
Japanese	BD	370	180	560	24.3	1.27	0.045
	Control	396	159	633	20.1	(0.44-0.90)	
Combined	BD	1545	303	2787		1.16	0.045
	Control	1664	286	3042		(0.98-1.39)	

M694V

Series	Diagnosis	Subject n	CC	CG	GG	MAF%	OR (95% CI)	P value
Turkish	BD	1167	4	101	1062	4.7	2.72	3.1x10 <sup>-9</sup>
	Control	1274	0	43	1231	1.7	(1.89-3.93)	

M694I ヘテロ  
日本人 BD n=2, HC n=1

表 3. LEPREL1 intron1 のホモ欠失保有率を  
ベーチェット病群と健常人で比較

Series	Method	Diagnosis	Subject n	Homo del n	%	OR (95% CI)	P value
Turkish	Illumina HumanCNV370 Chip	BD	1215	91	7.5	0.62 (0.47-0.82)	6.5x10 <sup>-4</sup>
		Control	1278	147	11.6		
Japanese	Q-PCR	BD	384	62	16.1	0.64 (0.45-0.90)	0.012
		Control	417	97	23.3		
Japanese 2	Q-PCR	BD	72	8	11.1	0.63 (0.27-1.42)	0.26
		Control	192	32	16.7		
Korean	Q-PCR	BD	52	10	19.2	0.55 (0.21-1.41)	0.21
		Control	43	13	30.2		
Greek	Q-PCR	BD	98	6	5.8	0.76 (0.24-2.46)	0.65
		Control	75	6	7.4		
Combined*		BD	1821	177		0.63 (0.51-0.77)	2.9x10 <sup>-9</sup>
		Control	2005	295			