

3) 難波多挙, 中尾佳奈子, 革嶋幸子, 湯野暁子, 玉那覇民子, 田上哲也, 臼井 健, 成瀬光栄, 島津 章. 後腹膜線維症を伴った IgG4 関連下垂体炎の 2 例, 間脳下垂体疾患研究会, 京都, 2011 年 8 月 27 日

4) 難波多挙, 中尾佳奈子, 革嶋幸子, 湯野暁子, 玉那覇民子, 田上哲也, 臼井 健, 成瀬光栄, 島津 章. 後腹膜線維症を伴った IgG4 関連下垂体炎の 2 例, 第 195 回日本内科学会近畿地方会、大阪, 2011 年 9 月 10 日

5) 難波多挙, 中尾佳奈子, 革嶋幸子, 湯野暁子, 玉那覇民子, 田上哲也, 臼井 健, 成瀬光栄, 島津 章. 後腹膜線維症を伴った IgG4 関連下垂体炎の 2 例, 第 38 回日本神経内分泌学会学術集会, 東京, 2011 年 11 月 25-26 日

6) 島津 章, 難波多挙, 沖 隆, 金本巨哲, 臼井 健, 田上哲也, 成瀬光栄. 下垂体炎の臨床例からみたリンパ球性下垂体炎の鑑別診断について. シンポジウム 2「下垂体炎の診断と治療」, 第 22 回日本間脳下垂体腫瘍学会, 東京都, 2012 年 2 月 24-25 日

## I. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

自己免疫性膵炎と喘息の合併について

研究協力者 洪 繁 国立長寿医療研究センター 消化機能診療科 内科医師

研究要旨：自己免疫性膵炎の発症に先立ち気管支喘息を合併した3症例を経験したので報告する。3例は全て男性で、IgG、IgG4 及び IgE 値の上昇を認めた。これらの症例ではダニ及びハウスダストに対するアレルギーを認めた。気管支喘息の発症は自己免疫性膵炎の発症より3ヶ月から30年以上先行していた。一例では、肺の炎症性偽腫瘍を認め、腫瘍組織では IgG4 陽性の形質細胞浸潤を認めた。これらの症例では、何らかのアレルギー機序が自己免疫性膵炎の発症に関与していると考えられた。

共同研究者

伊藤 理<sup>1</sup>、松浦俊博<sup>2</sup>、京兼和宏<sup>3</sup>、山田 理<sup>2</sup>、

所属

1.名古屋大学呼吸器内科、2.国立長寿医療研究センター消化機能診療科、3.同内視鏡診療科

A. 研究目的

自己免疫性膵炎は、IgG4 関連疾患の一部分症である。血液検査で、高ガンマグロブリン血症を認め、治療としてステロイド投与が有効であることから、その発症に自己免疫機序の関与が疑われている。

一方、これまでの検討で自己免疫性膵炎にはアレルギー疾患が高率に合併することから、自己免疫性膵炎はアレルギー疾患である可能性も報告されている(文献1)。

本研究では、自己免疫性膵炎に代表的なアレルギー疾患である気管支喘息を合併した症例について検討することで、自己免疫性膵炎の発症におけるアレルギー機序の関わりについて検討することを

目的とした。

B. 研究方法

名古屋大学附属病院呼吸器内科を受診中の気管支喘息患者のうち、自己免疫性膵炎を合併した3症例について後方視的研究を行った。

これらの症例では、血液生化学検査、血清学的検査、画像検査などを用いて検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、後方視的研究であり、これまでの臨床データを使うものである。倫理的な問題はない。さらに、患者の臨床データの解析に対しては、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

症例1 症例は38才男性。喫煙者。小児期より気管支喘息と診断され、発作時に吸入や内服治療を継続していた。32才の時に自己免疫性膵炎による閉塞性黄疸を発症し、ステロイド治療が導入されていた。転勤のために紹介となった。治療により寛解していたため、来院時はステロイド内服は行なっていなかった。二ヶ月

後に腹痛と肝機能障害を認め、CT画像で膵臓のびまん性腫大と膵部胆管狭窄による閉塞性黄疸を認めた。自己免疫性膵炎の再発と診断し、プレドニン 30mg/日の投与を行った所、血液検査所見は速やかに改善した。ステロイドのテーパリングを行った。プレドニンを 2.5mg/隔日投与まで減量したところ、気管支喘息発作を認めたため呼吸器科を受診し、吸入薬で治療を行った。自宅には室内にペット（ネコ）を飼育しており、RAST 検査でネコの表皮及びハウスダスト、ダニに陽性であった。

症例 2 61 才男性、喫煙者。以前より時々呼吸苦と喘息発作を認めており、気管支喘息と診断されていた。自己免疫性膵炎の診断でプレドニン治療を受けていたが、プレドニンを 5mg/隔日投与まで減量した所、喘息発作の再燃を認めたため呼吸器科を受診し、吸入療法を受けた。経過中に左肺上葉に腫瘤を認め、プレドニン治療によっても腫瘤の縮小を認めなかったことから、CT ガイド下生検を行った所 IgG4 陽性の形質細胞浸潤を認めた。

症例 3 59 才男性、非喫煙者。慢性副鼻腔炎の治療中に喘息発作を認め、呼吸器科を受診した。喘息の治療中に四ヶ月で七キログラムの体重減少を認めた。精査のために施行した CT 検査で膵のびまん性腫大とリパーゼ、アミラーゼ値の上昇をみとめた。すい臓がんを否定するために施行した EUS ガイド下生検（文献 2）では、IgG4 陽性の形質細胞の浸潤を認め、自己免疫性膵炎と診断した。治療のためにプレドニン 20mg/日を投与したところ、

喘息症状は速やかに消失したが、プレドニンを 5mg/日まで減量した所、喘息発作が再発し、吸入ステロイド治療を再開した。

#### D. 考察

自己免疫性膵炎は、その発症に自己免疫機序の関与が疑われる原因不明の炎症性疾患である。炎症時には膵のびまん腫大と血清学検査で IgG4 値の上昇が特徴的である。最近、膵以外でも全身の諸臓器（胆管、唾液腺、後腹膜、涙腺、腎臓、下垂体、肺など）の炎症性疾患で IgG4 値が上昇する症例があることから、これらの疾患は、IgG4 関連全身疾患の一部分症（文献 3）であると考えられてきている。

これまでの報告では、血液検査で血清ガンマグロブリンの上昇を認めることや、自己抗体などを高率に認めること、更には治療としてプレドニンが奏効すること（文献 4）などから、IgG4 関連疾患は自己免疫性疾患であると考えられている。

一方、別の報告では自己免疫性膵炎にはアレルギー疾患（気管支喘息、慢性副鼻腔炎）が高率に合併することから、その発症にアレルギー機序の関与も疑われる。そこで本研究では、自己免疫性膵炎に合併する呼吸器病変（気管支喘息）の病態を明らかにする事で、自己免疫性膵炎とアレルギー疾患の関わりについて検討した。その結果、自己免疫性膵炎 8 例中、3 例（38%）に気管支喘息の合併を認め、気管支喘息発作の治療は自己免疫性膵炎の治療のために投与した経口プレドニンの量に依存していた。いずれの症例でも経口プレドニンを 5mg/日以上投与していれば気管支喘息の発作は認めなかつ

たが、5mg/日以下に減量すると気管支喘息の再燃を認めていた。これらの症例ではいずれも血清 IgE 値が高値であり、その発症に何らかのアレルギー機序の関与が疑われた。

#### E. 結論

自己免疫性膵炎には高率に気管支喘息を合併していた。自己免疫性膵炎の発症に、気管支喘息と同じく何らかのアレルギー機序の関与が疑われた。今後、自己免疫性膵炎のプレドニン治療において、自己免疫性膵炎がアレルギー疾患である可能性も念頭において、治療を行う必要があると考えられた。

#### F. 参考文献

1. Kamisawa T, Anjiki H et al, Allergic manifestations in autoimmune pancreatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 21(10): 1136-1139, 2009
2. Mizuno N, Bhatia V et al. Histological diagnosis of autoimmune pancreatitis using EUS-guided trucut biopsy: comparison study with EUS-FNA. *J Gastroenterol.* 44(7):742-750, 2009
3. Kamisawa T, Okamoto A. Autoimmune pancreatitis: Proposal of IgG4-related sclerosing disease. *J Gastroenterol.* 41(7): 613-625, 2006.
4. Kamisawa T, Shimosegawa T et al. Standard steroid treatment for autoimmune pancreatitis. *Gut* 58(11):1504-1507, 2009
- G. 健康危険情報  
特になし。
- H. 研究発表
  1. 論文発表
    1. Ito S, Ko SB, Morioka M, Imaizumi K, Kondo M, Mizuno N, Hasegawa Y. Three Cases of Bronchial Asthma Preceding IgG4-Related Autoimmune Pancreatitis. *Allergol Int.* 2012, in press.
  2. 学会発表
    1. Ko SB, Mizuno N, Matsuura T, Kyokane K, Yamada S. “The purpose of steroid therapy for autoimmune pancreatitis” The international Pancreatic Research Forum 2011. Umeda, Osaka, 2011.11.26.
    2. Ko SB. “Molecular mechanism of aberrant HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport in pancreatitis.” *Frontiers in epithelial transport 2011*, Yonsei University, Seoul, Korea. 2011.04.14-15
    3. Ko SB, Mizuno N, Yatabe Y, Yoshikawa T, Ishiguro H, Yamamoto A, Azuma S, Nause S, Yamao K, Muallem S, Goto H. “Corticosteroid correct aberrant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator localization in the duct and regenerate acinar cells in autoimmune pancreatitis.” *International Association of Pancreatology at Fukuoka*, 2010.7.11-13 (07/11)
    4. Ko SB, Mizuno N, Yatabe Y, Yoshikawa T, Ishiguro H, Yamamoto A, Azuma S, Nause S, Yamao K, Muallem

S, Goto H. "Corticosteroid correct aberrant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator localization in the duct and regenerate acinar cells in autoimmune pancreatitis." European Pancreatic Club meeting at Stockholm, Sweden. 2010.6.17-19 (06/18)

2. 実用新案登録  
なし  
3. その他  
なし

5. 洪 繁、伊藤 理、長谷川好規  
「自己免疫性膵炎に合併した気管支喘息の臨床的検討」  
厚生労働省科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4関連全身硬化性疾患の診断確立と治療法開発に関する研究  
平成23年第1回総会、メルパルク京都、京都市、2011.8.2
6. 洪 繁、後藤秀実、  
「2型AIPの治療経過からみた膵機能障害の治療戦略」  
第42回日本膵臓学会大会  
シンポジウム1「膵機能障害の治療戦略—包括的治療には何が必要か—」  
ホテルニューキャッスル、弘前市、2011.7.30
7. 洪 繁、後藤秀実、  
「膵炎はなぜくりかえすのか？—導管細胞機能からみた膵炎再発原因とその対策」  
第42回日本膵臓学会大会  
シンポジウム2「再発性膵炎の治療」  
ホテルニューキャッスル、弘前市、2011.7.29

□. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

IgG4 関連疾患との鑑別が問題となった multicentric Castleman's  
disease の 2 例

研究協力者 三嶋 理晃 京都大学大学院医学研究科・京都大学附属病院呼吸器内科 教授

研究要旨：京都大学附属病院および関連施設で肺病変を有する multicentric Castleman's disease (MCD) と診断された 2 例につき、IgG4 関連疾患との類似点、相違点を検討した。2 例とも血清 IgG4 高値、病理組織での IgG4 陽性形質細胞の浸潤を認めたが、ステロイド不応性の経過、血清 IL-6 高値から肺病変を有する MCD と診断した。IgG4 関連疾患の診断においては MCD の除外が不可欠である。

共同研究者

半田知宏<sup>1,2</sup>、池添浩平<sup>1</sup>、高橋憲一<sup>3</sup>、渡辺創<sup>1</sup>、相原顕作<sup>1</sup>、谷澤公伸<sup>1</sup>、久保武<sup>4</sup>、長井苑子<sup>5</sup>、陳和夫<sup>6</sup>、三森経世<sup>7</sup>

<sup>1</sup>京都大学医学部附属病院呼吸器内科

<sup>2</sup>京都大学医学部附属病院リハビリテーション部

<sup>3</sup>大津赤十字病院呼吸器内科

<sup>4</sup>京都大学医学部附属病院放射線診断部

<sup>5</sup>京都健康管理研究会中央診療所/臨床研究センター

<sup>6</sup>京都大学医学部附属病院呼吸管理睡眠制御学講座

<sup>7</sup>京都大学医学部附属病院免疫・膠原病内科

A. 研究目的

IgG4 関連疾患の診断において、multicentric Castleman's disease (MCD) の鑑別の必要性を明らかにする。

B. 研究方法

2011 年 1 月～12 月において、京都大学附属病院および関連施設で肺病変を有する

MCD と診断された 2 例につき、IgG4 関連疾患との類似点、相違点を後方視的に検討した。

(倫理面への配慮)

研究目的の臨床情報の利用につき患者本人より同意を得た。

C. 研究結果

(症例 1)

46 歳男性。7 年前にサルコイドーシスと診断され、ステロイド、メソトレキセートで加療されたが、治療不応性の貧血、発熱が続き紹介された。血液検査で CRP12.5mg/dL、IgG4 1320mg/dL、IL-6 30.9pg/mL といずれも上昇していた。胸部 CT では肺門縦隔リンパ節腫大、小葉中心性粒状影、気管支血管束肥厚、小葉間隔壁肥厚、薄壁を伴う多発嚢胞を認めた。外科的肺生検では気管支血管周囲および小葉間間質に形質細胞およびリンパ球の浸潤と線維化を認め、形質細胞の 25%は IgG4 陽性であった。ステロイド不応の経過、CRP および IL-6 高値と併せて MCD と診断した。

(症例 2)

57歳女性。胸部異常影を主訴に紹介された。血液検査でCRP9.5mg/dL、IgG4 1130mg/dL、IL-6 33.8pg/mLといずれも上昇していた。頸胸部CTでは頸部腋窩肺門縦隔リンパ節腫大、多発結節影、気管支血管束肥厚、小葉間隔壁肥厚、薄壁を伴う多発嚢胞を認めた。外科的肺生検では気管支血管周囲および小葉間間質に形質細胞およびリンパ濾胞形成を認め、形質細胞の50%はIgG4陽性であった。初期治療としてステロイドが開始されたが画像所見に改善はなく、ステロイド不応の経過、CRPおよびIL-6高値と併せてMCDと診断した。

#### D. 考察

肺病変を有するMCDは、本研究の2例に見られるように、血清IgG4高値、病理組織でのIgG4陽性形質細胞の浸潤という点でIgG4関連疾患の肺病変と類似する。本研究の2例では、ステロイド不応性の経過、血清IL-6高値からMCDと診断されたが、今後IgG4関連疾患の診断基準の整備、普及に伴い、この2疾患の鑑別診断が問題になるものと思われる。MCDはIgG4関連疾患と異なってステロイド不応性とされ、IL-6に対するモノクローナル抗体による疾患特異的な治療の有効性が提唱されている。従って、IgG4関連疾患の診断にあたっては、血清IgG4値やIgG4陽性形質細胞の有無のみではなく、臨床経過、画像所見、病理組織所見を交えた統合的アプローチが望ましい。

#### E. 結論

IgG4関連疾患の診断に際しては、MCDの除外診断が不可欠である。

#### F. 参考文献

1. Umehara H, Okazaki K, Masaki Y, et al. Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod Rheumatol* 2012.
2. Waterston A, Bower M. Fifty years of multicentric Castleman's disease. *Acta Oncol* 2004;43:698-704.
3. Sato Y, Kojima M, Takata K, et al. Systemic IgG4-related lymphadenopathy: a clinical and pathologic comparison to multicentric Castleman's disease. *Mod Pathol* 2009;22:589-99.

#### G. 健康危険情報 該当なし

#### H. 研究発表

1. 論文発表  
該当なし

2. 学会発表

高橋憲一、白瀬智之、嶋一樹、濱川瑤子、金田祥平、野口進、森山あかり、豊洋次郎、片倉浩理、雑賀興慶、福岡順也、山中晃。IgG4高値、IgG4陽性形質細胞の甲順を認めた multicentric Castleman 病の1例。第78回日本呼吸器学会・第108回日本結核病学会近畿地方会。大阪国際会議場。2011年12月3日。

#### I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

## 接着制御分子破綻による自己免疫発症の機構

研究分担者 木梨達雄 関西医科大学附属生命医学研究所 教授

研究要旨：接着制御因子 Mst1 欠損したマウス加齢とともに自己免疫様症状を呈する。Mst1 欠損によって胸腺細胞と Aire 陽性胸腺上皮細胞との抗原依存的接着が低下し、自己抗原による負の選択が低下していた。また制御性 T 細胞の胸腺での発生低下や抗原依存的抑制機能が障害されていた。ヒト IgG4 関連疾患患者末梢血 DNA を用いて MST1 プロモーター領域の CpG メチル化を解析した結果、腓外病変もつ患者でメチル化が有意に亢進していた。以上の結果から、IgG4 関連疾患の自己免疫症状に Mst1 が関連していることが示唆された。

### 共同研究者

植田祥啓

関西医科大学附属生命医学研究所

富山尚

関西医科大学内科学第 3 講座

安田鐘樹

関西医科大学泌尿器科

片桐晃子

関西大学院理工学部

片貝智哉

関西医科大学附属生命医学研究所

羽廣克嘉

関西医科大学附属生命医学研究所

### A. 研究目的

接着制御分子 RAPL は Mst1 と複合体を介してリンパ球の接着や体内動態を制御しているが、Mst1 の遺伝子欠損マウスは加齢とともに血清 IgG 値亢進、自己抗体陽性、腓臓、肺、肝臓、唾液腺などにリンパ球浸潤、おこり、自己免疫様症状を呈する（参考文献 1）。これらの病態はヒト難治性 IgG4 関連全身疾患との類似性をもつことから、その病因を探るとともに、IgG4 疾患における接着制御分子の異常の有無を明らかにする。RAPL, Mst1 とともにプロモーター領域は CpG に富み、腫瘍性

疾患で DNA メチル化による発現低下が報告されている（参考文献 2、3）。そこで IgG4 関連疾患において Mst1, RAPL 遺伝子の DNA メチル化を検討する。

### B. 研究方法・結果

接着制御分子 Mst1 欠損 H-Y/TCR、OT-II/RIPmOVA トランスジェニックマウス等を用いて解析する。4-6 週齢のメス、オスの胸腺や脾臓の FACS 解析から正、負の選択を調べ、さらに胸腺組織スライスを用いて胸腺細胞の組織内動態を 2 光子顕微鏡によって解析する。IgG4 関連疾患における Mst1, RAPL 遺伝子の sodium bisulfite 法によるメチル化マッピングを行う。

（倫理面への配慮）

マウスは SPF 環境において飼育し、適切な動物愛護の配慮のもとに実験を行う。本実験の遺伝子組換え動物実験計画は、関西医科大学動物実験委員会の承認を得ている。

承認番号：11-105 (01)、課題番号「接着分子インテグリンを介する細胞接着の分子機構」研究代表者 木梨達雄

患者検体を用いた DNA 解析は文書による説明、同意を得たうえで行う。解析データについては匿名化、連結可能匿名化を行い、個人情報として特定できないよ

うにする。本解析は、関西医科大学医学倫理委員会の承認を得ている。

承認番号 関医倫第 0903 号 課題名  
「IgG4 関連疾患・自己免疫性膵炎における疾患関連遺伝子の解析」

主任研究者 岡崎和一 内科学第三講座・教授

分担研究者 木梨達雄

### C. 研究結果

Mst1 欠損 HY-TCR マウス (メス) では HY 陽性 CD8+ 胸腺細胞が 1/3 に低下しており、正の選択が低下していた。オスでは CD4+CD8+ 胸腺細胞が正常では激減するが Mst1 欠損では減少の程度がやや低かったが、有意差はなかった。そこで組織特異的自己抗原による負の選択として OT-II/RIPmOVA の系を用いた結果、Mst1 欠損マウスでは負の選択が障害されていた。また、胸腺組織を用いた 2 光子レーザー顕微鏡による胸腺細胞動態解析を行った。RIPmOVA マウス由来胸腺組織では OT-II 胸腺細胞と Aire 陽性髄質胸腺上皮細胞 (mTEC) との抗原依存的接着が LFA-1/ICAM-1 を介して起こるが、Mst1 欠損胸腺細胞では mTEC との接着が低下していた。Mst1 欠損マウスでは胸腺での制御性 T 細胞 (Treg) の発生が低下していたが、末梢では Treg (CD4+FoxP3+) の数は回復していた。末梢 Treg を単離し、脾臓樹状細胞 (DC) と培養すると、DC の共刺激分子 CD80, CD86 の低下を誘導するが、Mst1 欠損 Treg では障害されていた。また、抗原特異的 T 細胞の増殖応答について、末梢 Treg による抑制効果を調べた結果、Treg によるナイーブ T 細胞の増殖抑制が低下していた。

IgG4 関連自己免疫性膵炎患者 (20 名)

の末梢血と健常人 (10 名) を単離し、RAPL, MST1 遺伝子プロモータ領域の CpG メチル化を bisulfite mapping のよって調べた。その結果、RAPL については有意差はなかった。Mst1 については膵外病変 (唾液腺炎、後腹膜線維症、肺病変、縦隔リンパ節腫大など) を持つ患者で有意にメチル化が亢進していた。

### D. 考察

Mst1 による LFA-1・ICAM-1 を介した胸腺細胞の接着、移動は胸腺髄質の移動や mTEC に提示されている自己抗原の認識に重要であることがあることが明らかになった。組織特異的抗原は Aire によって発現が制御されているが、直接抗原提示しているかどうか不明であった。2 光子イメージングによって RIP-mOVA 胸腺において ICAM-1 陽性の mTEC と抗原特異的に接着していることから組織特異抗原を直接提示していることが示された (論文投稿中)。また、Treg は CD4+ 胸腺細胞と同様、mTEC がその分化に必要と報告されていることから Mst1 欠損によって mTEC との接着が低下したために、減少したと考えられる。Mst1 欠損マウスでは末梢 Treg は数は回復するが、DC との抗原特異的接着が障害されていることから、抑制機能には LFA-1/ICAM-1 を介した接着が必要であると考えられる。

ヒト IgG4 関連疾患において膵外病変を持つ患者において Mst1 のメチル化が有意に高いことから、多臓器にわたる IgG4 関連疾患の自己免疫症状に Mst1 のメチル化による発現低下が関与していることが予想される (論文準備中)。

## E. 結論

Mst1 は胸腺細胞の LFA-1/ICAM-1 を介する接着を制御することによって組織特異的抗原に対する自己寛容形成や制御性 T 細胞の機能に重要であることがあきらかになった。また、腓外病変をもつ IgG4 関連疾患の病態に MST1 遺伝子のメチル化が関与していることが示唆された。

## F. 参考文献

- (1) Katagiri, K., Ueda, Y., Tomiyama, T., Yasuda, K., Toda, Y., Ikehara, S., Nakayama, K. I., Kinashi, T. RAPL deficiency caused lymphoproliferative disorders through the mislocalization of p27<sup>kip</sup>. *Immunity* 34(1):24-38. 2011
- (2) Richter, A. M., Pfeifer, G. P., Dammann, R. H. The RASSF proteins in cancer; from epigenetic silencing to functional characterization. *Biochim Biophys Acta* 1796(2): 114-128. 2009
- (3) Seidel, C., U. Schagdarsurengin, K. Blumke, P. Wurl, G. P. Pfeifer, S. Hauptmann, H. Taubert, and R. Dammann, *Frequent hypermethylation of MST1 and MST2 in soft tissue sarcoma*. *Mol Carcinog.* 46(10): 865-871. 2007

## G. 健康危険情報 なし

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kinashi, T. Overview of integrin signaling in the immune system. *Methods Mol. Biol.* 757:261-78 (2012)

### 2. 学会発表

(国際学会)

1. Kinashi Tatsuo, Regulation of immune cell trafficking and antigen recognition through Rap1

signaling The 21st Hot Spring Harbor Symposium jointly with 9th Global COE International Symposium: Cell Migration in Biology and Medicine, Fukuoka Japan, Jan 2012.

2. Kinashi Tatsuo Regulation of thymocyte trafficking and antigen recognition within thymic tissues through integrins and Rap1 effector Mst1. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology Chemokines and Leukocyte Trafficking in Homeostasis and Inflammation, Breckenridge USA, Jan 2012
3. Tatsuo Kinashi, Koko Katagiri, Katakai Tomoya, Yoshihiro Ueda, Katsuyoshi Habiro., Crucial roles of Mst1 and RAPL (RASSF5) in lymphocyte adhesion and proliferation. 2nd International RASSF Symposium, Oxford UK, July 2011
4. Tatsuo Kinashi, Koko Katagiri, Katakai Tomoya, Yoshihiro Ueda, Katsuyoshi Habiro, Cell migration and antigen recognition within lymph nodes and thymus. London Research Institute Cancer Research UK, London UK, July 2011

(国内学会)

1. 木梨達雄 Rap1 シグナルによるリンパ球動態の制御機構 新学術研究「動く細胞と場のクロストークによる秩序の生成」第1回 公開シンポジウム「動く細胞と場を読む」2012年1月 名古屋
2. 木梨達雄、片貝智哉、植田祥啓、羽廣克嘉 イメージングによるリンパ球組織内移動の調節とその破綻の解析 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会 2011年11月 東京
3. Katakai Tomoya, Tatsuo Kinashi, High-speed interstitial T cell migration within lymph node

- parenchyma involves  
LFA-1-dependent and -independent  
motility modes. 2011 The Annual  
Meeting of the Japanese Society for  
Immunology, Chiba Japan, Nov. 2011
4. Ueda Yoshihiro, Katagiri Koko,  
Tomiyama Takashi, Yasuda Kaneki,  
Habiro Katsuyoshi, Katakai Tomoya,  
Ikehara Susumu, Kinashi Tatsuo,  
Mst1 regulates thymocyte  
trafficking and antigen  
recognition within thymic tissues.  
2011 The Annual Meeting of the  
Japanese Society for Immunology,  
Chiba Japan, Nov. 2011
  5. Habiro Katsuyoshi, Katakai Tomoya,  
Kinashi Tatsuo, Two-step model of  
T cell-DC primary contacts and  
roles of integrin-regulatory  
Mst1. 2011 The Annual Meeting of the  
Japanese Society for Immunology,  
Chiba Japan, Nov. 2011
  6. 木梨達雄 接着制御シグナルの破  
綻と自己免疫疾患 CREST「免  
疫機構 領域 第二回シンポジウム  
2011年9月 東京

I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

## 全ゲノム網羅的 SNP を用いた自己免疫性膵炎の感受性遺伝子の解析

研究協力者 太田正穂 信州大学医学部法医学教室 准教授  
研究分担者 川 茂幸 信州大学健康安全センター 教授

研究要旨：自己免疫性膵炎は複数の遺伝子座が関わる多因子性遺伝性疾患と考えられる。本疾患の量的形質の一つである疾患感受性遺伝子解析の目的で、Affimetrix 社製 SNP チップ、GeneChip Human Mapping 500k Array Set を用いて、AIP 患者さん 115 人について全ゲノム網羅的な相関解析 (genome-wide association study: GWAS) と、血清中の IgG4 値が >135mg/dl 以上の患者さん 100 人との相関解析を行った。P<0.0001 の有意差を示す SNPs が 17 種類、これらの SNPs を含む遺伝子は 13 種類あった。そのうち、機能的に興味を持たれた遺伝子 3 種類 (CLNK, PAX5, FCER2) について、遺伝子領域内に、500K SNP セットに含まれない新たな SNPs を設定し、再現性試験を行った。3 種類の遺伝子の内、CLNK と PAX5 では遺伝子内に設けた SNPs で有意差が得られた (P<0.01)。今後、これらの遺伝子について、検体数を増やし確認試験・メタアナリシスを行い、本疾患における感受性遺伝子としての検証が必要である。更に、これらの遺伝子が疾患発症に及ぼす機能的意義の検討も必要である。

### 共同研究者

浜野英明<sup>1)</sup> 長谷部 修<sup>2)</sup> 伊藤哲也<sup>1)</sup> 村木 崇<sup>1)</sup> 新倉則和<sup>1)</sup> 目黒 明<sup>2)</sup> 猪子 英俊<sup>3)</sup>

### 所属

- 1) 信州大学消化器内科
- 2) 長野市民病院消化器内科
- 3) 東海大学医学部

性膵炎である。健常人と比較して 10 倍以上血清 IgG4 値の上昇が見られ、膵病変局所には IgG4 陽性形質細胞の顕著な浸潤が認められる。このような所見は膵癌、通常の慢性膵炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管、シェーグレン症候群患者では認められていない。現在、自己免疫性膵炎は IgG4 が関連する全身性疾患と認識され、この疾患の病態・発症機序の詳細については充分解析されていないが、疾患発症の背景には自己免疫学的機序が関与していると考えられる。<sup>1-3)</sup> 自己免疫性疾患の発症には、複数の遺伝子座に支配された感受性遺伝子 (量的形質遺伝子) と環境要因が影響しており<sup>4,5)</sup>、自己免疫性膵炎も複数の量的遺伝形質により発症する多因子性疾患と考えられる。発症に関わる複数の感受性遺伝子検索には、ヒト全ゲノム上に存在する 1 塩基多型マーカー (SNP: single nucleotide

### A. 研究目的

自己免疫性膵炎は(1)膵管の不整狭細像、膵腫大、閉塞性黄疸など膵癌と臨床像が類似、(2)血清 IgG 高値、リンパ球浸潤を伴う著明な線維化、ステロイドに対する良好な反応性などの自己免疫所見、(3)涙腺・唾液腺炎、硬化性胆管炎、後腹膜線維症などの様々な膵外病変の合併、によって特徴づけられる特異な慢

polymorphism) を用いた相関解析 (GWAS: genome-wide association study) により行われている。これまで我々は、自己免疫性疾患発症に関わる感受性遺伝子の検索に、Affimetrix 社製 SNP チップ、GeneChip Human Mapping 500k Array Set を用いて、GWAS を行った。その結果  $P < 0.0001$  の有意差を示す SNPs が 17 種類、これらの SNPs を含む遺伝子 13 種類が検出された。今回、そのうち機能的に興味がある 3 種類の遺伝子 (CLNK; cytokine-dependent hematopoietic cell linker, PAX5; paired box gene 5, FCER2; Fc fragment of IgE) について、GeneChip Human Mapping 500k Array Set で用いられていない新たな SNPs を各遺伝子内に設定し、相関解析を行った。

## B. 研究方法

### ① 解析サンプル

解析に用いた資料は、自己免疫性膵炎と診断された患者さん 115 人の DNA、そのうち血清中の IgG4 値が  $135\text{mg/dl}$  以上の患者さん 100 人の DNA を用いた。コントロールは、GWAS で用いた試料とは異なった DNA 試料で、健常人 253 人より供与された DNA を用いた。

### ② 疾患感受性候補遺伝子の確認試験

Affymetrix 社の GeneChip Human Mapping 500K Array Set (500,568 SNPs) を用いた GWAS で強い相関を示した SNP から感受性候補遺伝子として選んだ CLNK, PAX5, FCER2 遺伝子の内側に設けた SNPs を用いて (図 1-3)、相関解析を行った。SNP タイピングは ABI TaqMan SNP genotyping assay kit を用い、TaqMan Real Time PCR (7500 Real Time PCR System, ABI) で行った。

統計解析は、 $\chi^2$  test, Fisher's exact test,

Hardy Weinberg Equilibrium test, Linkage Disequilibrium (LD) analysis, Haplotype analysis (Haploview ソフト) を行った。  
(倫理面への配慮)

「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的背景の検討」については、信州大学医学部倫理委員会の承認を受けた (平成 20 年 3 月 25 日承認)。

## C. 研究結果

SNP の quality control として、call rate 95% 以上、Hardy-Weinberg equilibrium P 値が 0.001 以上、MAF (minor allele frequency) が 5% 以上で選択したところ、322,091 SNPs が統計解析に有効として選択された。また、偽陽性の SNP を除外するため、clustering analysis を行い、 $P < 0.0001$  を示す SNP の LD 領域にある他の SNP が何れも  $P < 0.05$  を示さなければ、偽陽性として除外した。これらの SNPs を用いて、自己免疫性膵炎症例で血清中の IgG4 値が  $>135\text{mg/dl}$  以上の患者さん 100 人との相関解析で、 $P < 0.0001$  の有意差を示す SNPs は 17 種類確認され、これらの SNPs を含む遺伝子は 13 種類確認された (データ非公開)。

### ① 疾患感受性候補遺伝子 CLNK の確認試験

CLNK (Cytokine-Dependent Hematopoietic Cell Linker) は別称 MIST (Mast Cell Immunoreceptor Signal Transducer) と呼ばれ、T 細胞および B 細胞抗原レセプター下流で免疫シグナリングを調節している SLP-76 アダプタータンパク族に属する第 3 の分子で、IgE レセプターを介した MAST 細胞の脱顆粒反応やサイトカイン刺激に伴う多様なシグナル伝達に関与していると言われ<sup>6)</sup>、肥満細胞や NK 細胞などサイトカインで活性化された造血細胞に発現している。しかし詳細な機能についてはまだ不明なことが多い。

GWAS で強い有意差を示した 2 種類の SNPs に新たに 7 種類の SNPs を加え、相関解析を行った(表 1)。GWAS で強い相関を示した。rs4565074 と rs6448605 は確認試験でも同様に有意差( $p < 0.017$ ; R. R. =1.63,  $p < 0.021$ ; R. R. =1.61))を示した。

#### ②疾患感受性候補遺伝子 *PAK5* の確認試験

*PAX5*(paired box 5) 遺伝子は、B 細胞系の分化段階を通して発現し、転写因子 BSAP (B cell-specific activator protein) をコードする<sup>7,8)</sup>。*PAX5* 遺伝子内に設定した 5 種類の SNPs について相関解析を行った(表 2)。強い相関( $p = 0.0002$ , OR:2.04)を示した rs7026505 は GWAS でも強い相関を示していた。またその近傍に設定した rs3824344 も有意な相関を示した。尚、用いたコントロールは GWAS で用いたものとは別の群である。

#### ③疾患感受性候補遺伝子 *FCER2* の確認試験

*FCER2*(Fc fragment of IgE, Low affinity II, Receptor for CD23) 遺伝子は、CD23 と呼ばれ、低親和性 IgE 受容体として、主に成熟 B 細胞、単球、濾胞樹状細胞に発現し、B 細胞の活性化と IgE の下方制御に関与している<sup>9,10)</sup>。*FCER2* 遺伝子内に設けた 5 種類の SNPs は、今回の確認試験では何れも有意差が得られなかった(表 3)。GWAS では  $P = 0.000085$  を示した rs12611038 も確認試験では有意差を示さなかった。

#### D. 考察

GWAS 解析で統計学的有意差を示した多くの SNP の中で、SNP を遺伝子内に持ち、機能的に興味を持たれた遺伝子 *CLNK*, *PAK5* と *FCER2* について、fine mapping および確認試験を行ったところ、*CLNK*, *PAK5* 内の SNP に疾患との相関を確認した。有意差を示した SNPs の遺

伝子多型と細胞での遺伝子発現程度 との相関、機能的な検討が必要である。また、今後、検体数を増やした確認試験やメタアナリシを行い客観的な実証を得る必要がある。

#### E. 結論

GWAS を用いた自己免疫性膵炎感受性遺伝子検索で、候補遺伝子として選ばれた遺伝子のなかで、*CLNK*, *PAK5* と *FCER2* について、fine mapping と確認試験を行ったところ、*CLNK* と *PAK5* 内に設定した SNP と相関を示した。

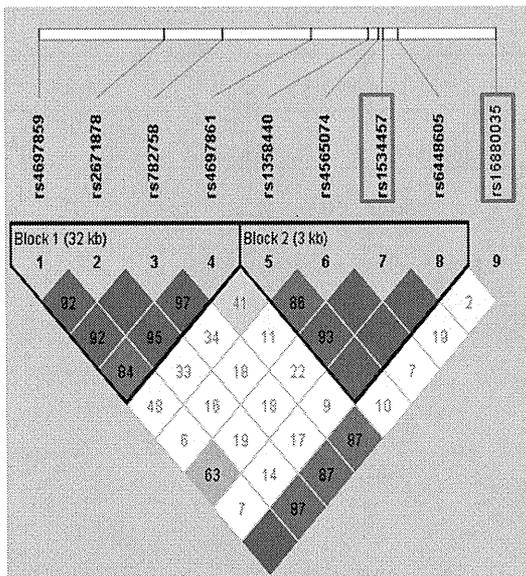
#### F. 参考文献

1. Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, et al.: Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality, proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1561-1568.
2. Hamano H, Kawa S, Horiuchi A, et al.: High serum IgG4 concentrations in patients with sclerosing pancreatitis. *New Engl J Med* 2001; 344: 732-738.
3. Okazaki K, Uchida K, Chiba T. Recent concept of autoimmune-related pancreatitis. *J Gastroenterol* 2001; 36: 293-302.
4. McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, et al. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nature Rev Genet* 2008; 9: 356-369.
5. Plomin R, Haworth CM, Davis OS. Common disorders are quantitative traits. *Nature Rev Genet* 2009; 10: 872-878.
6. Hirano S, Sasanuma H, Ohshima K, et al. Distinct regulatory functions of SLP-76 and MIST in NK cell cytotoxicity and

- IFN- $\gamma$  production. International Immunol 2008; 20: 345-352.
7. McManus S, Ebert A, Salvaggio G, et al. The transcription factor Pax5 regulates its target genes by recruiting chromatin-modifying proteins in committed B cells. EMBO J 2011; 30: 2388-2402.
8. Nutt SL, Taubenheim N, Hasbold J, et al. The genetic network controlling plasma cell differentiation. Semin Immunol 2011; 23: 341-349.
9. Kijimoto-Ochiai S. CD23(the low-affinity IgE receptor) as a C-type lectin: a multidomain and multifunctional molecule. Cell Mol Life Sci 2002; 59:648-664.
10. Acharya M, Borland G, Edkins AL et al. CD23/Fc $\epsilon$ R2: molecular multi-tasking. Clin Exp Immunol 2010; 162: 12-23.
- G. 健康危険情報  
該当なし
- H. 研究発表
1. 論文発表
- 1) Umemura T, Zen Y, Hamano H, Joshita S, Ichijo T, Yoshizawa K, Kiyosawa K, Ota M, Kawa S, Nakanuma Y, Tanaka E. Clinical significance of immunoglobulin G4-associated autoimmune hepatitis. J Gastroenterol. 2011; 46 Suppl 1:48-55.
- 2) Kawa S, Fujinaga Y, Ota M, Hamano H, Bahram S. Autoimmune Pancreatitis and Diagnostic Criteria. Current Immunology Reviews 2011 ; 7:144-161
- 3) Ota M, Ito T, Umemura T, Katsuyama Y, Yoshizawa K, Hamano H, Kawa S. Polymorphism in the KCNA3 gene is associated with susceptibility to autoimmune pancreatitis in the Japanese population. Dis Markers. 2011; 31: 223-229.
2. 学会発表
- 1) Ota M Symposium 3: Approach for Pathogenesis, Genetic Analysis, Pancreas Research Forum (IPRF) 2011 OSAKA Japan. 2011. November 26<sup>th</sup>
- 2) 太田正穂、「自己免疫性膵炎感受性遺伝子の解析」シンポジウム MHC を見据えた臨床医学、第 20 回日本組織適合性学会大会 (静岡) 2011.8.30
- I. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし

表1 *CLNK* 遺伝子内SNPの確認試験

Case : n=99  
Control : n=253

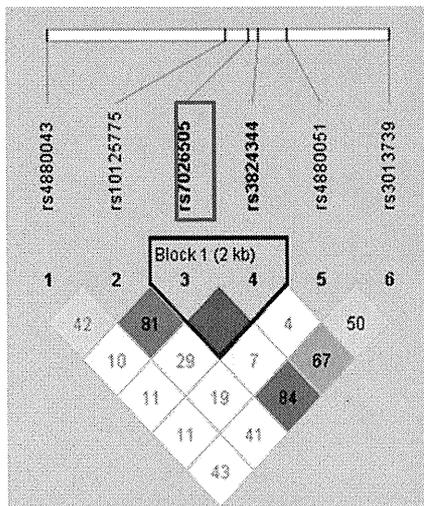


CLNK:194,549 bp

rs No	Ass. Allele	Frequencies		OR	P value	GWAS	
		Case	Control			OR	p value
rs4697859	C	0.288	0.257	1.17	0.4030		
rs2671878	A	0.545	0.484	1.28	0.1438		
rs782758	T	0.540	0.482	1.28	0.1650		
rs4697861	C	0.545	0.474	1.33	0.0896		
rs1358440	T	0.581	0.542	1.17	0.3457		
rs4565074	G	0.242	0.164	1.63	0.0163	2.27	5.47E-05
rs1534457	G	0.419	0.316	1.56	0.0098		
rs6448605	A	0.232	0.158	1.61	0.0209	2.40	2.60E-05
rs16880035	G	0.126	0.101	1.23	0.3275		

表2 *PAK5* 遺伝子内SNPの確認試験

Case: n=100  
Control: n=228

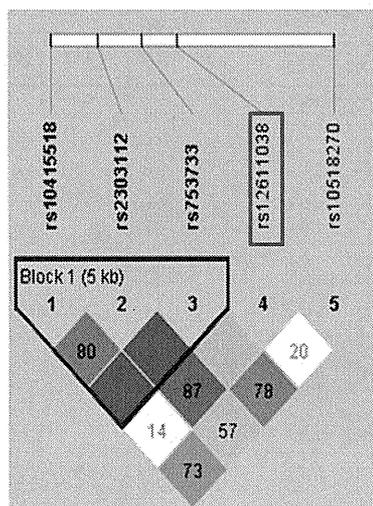


PAK5:194,549 bp

rs No	Position	Risk Allele	Frequencies		OR	P	GWAS	
			Case	Control			OR	P value
rs4880043	36940507	C	0.44	0.41	1.12	0.508		
rs10125775	36983071	T	0.70	0.66	1.23	0.267		
rs7026505	36988416	G	0.33	0.19	2.04	0.0002	2.17	3.92E-05
rs3824344	36990687	T	0.65	0.52	1.68	0.003		
rs4880051	36997475	G	0.39	0.34	1.19	0.316		
rs3013739	37021876	A	0.84	0.80	1.28	0.270		

表3 FCER2遺伝子内SNPの確認試験

Case: n=100  
Control: n=228



rs No	Position	Risk Allele	Frequencies				GWAS	
			Case	Control	OR	P	OR	P value
rs10415518	7669917	A	0.50	0.45	1.22	0.239		
rs2303112	7672866	T	0.69	0.65	1.19	0.344		
rs753733	7675566	A	0.13	0.12	1.02	0.937		
rs12611038	7677742	T	0.21	0.16	1.40	0.122	2.20	8.50E-05
rs10518270	7687435	G	0.36	0.30	1.29	0.154		

FCER2: 13,389 bp

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
IgG4 関連全身硬化性疾患の診断法の確立と治療方法の開発に関する研究  
分担研究報告書

## 全ゲノム網羅的 SNP を用いた自己免疫性膵炎の感受性遺伝子の解析

研究分担者 川 茂幸 信州大学健康安全センター 教授

研究要旨：自己免疫性疾患は遺伝的要因と環境要因が背景に存在する多因子疾患である。本疾患の病態に関連する遺伝的要因解明の目的で、Affimetrix 社製 SNP チップ、GeneChip Human Mapping 500k Array Set を用いて、自己免疫性膵炎 115 検体の全ゲノム網羅的な相関解析 (genome-wide association study: GWAS) を行った。コントロールのタイピングデータは健常人 766 例分をもちいた。健常人のデータと比較し、本疾患に有意と判定された SNP を同定し、その近傍の感受性候補遺伝子を同定した。さらに本疾患患者の中で IgG4 値が  $>135\text{mg/dl}$  とコントロールとの相関をみた。相関解析はアレル頻度についてカイ 2 乗検定を行い、 $P < 1 \times 10^{-5}$  の有意差で、遺伝子内に 2 種類以上の有意差を示す SNPs を含む遺伝子を疾患感受性候補遺伝子とした。その結果本疾患全症例と IgG4 高値群の両群でコントロールに対して強い相関を示した SNPs は 10 個あった。選択された遺伝子のなかには、われわれが以前報告した *HLA-DQB1* ならびに免疫学的機序に関連する遺伝子 *FCER2* (FC fragment of IgE, low affinity II, receptor for CD23) や *MIST* が認められた。

### 研究協力者

太田正穂<sup>1)</sup> 浜野英明<sup>2)</sup> 長谷部 修<sup>3)</sup>

### 共同研究者

伊藤哲也<sup>2)</sup> 村木 崇<sup>2)</sup> 新倉則和<sup>2)</sup>

目黒 明<sup>4)</sup> 猪子英俊<sup>4)</sup>

### 所属

<sup>1)</sup>信州大学法医学教室

<sup>2)</sup>信州大学消化器内科

<sup>3)</sup>長野市民病院消化器内科

<sup>4)</sup>東海大学医学部

な慢性膵炎である。血清 IgG4 の上昇が特徴的で、自己免疫学的機序が背景に存在すると考えられる

。<sup>1-5)</sup>しかし、その病態・発症機序の詳細については充分には解明されていない。従来、本症の原因遺伝子の検索は血中自己抗体の対応抗原の検索を目的に、phage display selection 法や proteome 解析が行われてきた。その結果、いくつかの自己抗原が提唱されてきたが感度、特異度の点で十分なものはなく、本症の発症要因を検索する手法としては限界があると考えられる。

自己免疫性疾患は遺伝的要因と環境要因が背景に存在する多因子疾患である。遺伝要因検索の効果的な方法として網羅的に統計学と情報学を用いて探索する方法が可能となってきた。われわれはこれまで本疾患の病態に関連する因子を解明する目的で、HLA 領域の解析、*FCRL3* 遺伝子、*CTLA4* 遺伝子の多

### A. 研究目的

自己免疫性膵炎は(1)膵管の不整狭細像、膵腫大、閉塞性黄疸など膵癌と臨床像が類似、(2)血清 IgG 高値、リンパ球浸潤を伴う著明な線維化、ステロイドに対する良好な反応性などの自己免疫所見、(3)涙腺・唾液腺炎、硬化性胆管炎、後腹膜線維症などの様々な膵外病変の合併、によって特徴づけられる特異

型について検討し、関連を報告してきた。<sup>6-8)</sup> ゲノムワイドなマイクロサテライトマーカーを用いて、全染色体を対象として相関解析を施行し、12種の感受性アリルと4種の抵抗性アリルを検出した。SNP解析にて本疾患と有意な相関を認める遺伝子の検出を試み、カリウムイオンチャンネル蛋白 KCNA3 (Kv1.3)や種々の候補遺伝子を認めた。<sup>9)</sup>

今回はより網羅的な方法として、SNPを利用した全ゲノム関連解析 (genome-wide association study: GWAS)を試みた。本方法は症例数さえ確保できれば、一定以上の寄与をする遺伝的な要因を確実に補足できるとされ、多因子疾患の遺伝的原因を検索する画期的な手法である。遺伝子多型 (DNA多型)の一部は遺伝子産物の量や質に影響を及ぼし、その結果、我々の個性を生み出すとともに、疾患に罹りやすい体質、薬剤の効果・副作用の個人差などに関連する。つまり、遺伝子多型研究によりこれまで解析が難しかった多因子疾患の原因解明が明らかになると期待されている。<sup>10)</sup> 自己免疫性膵炎症例については115例について検体収集されており、今後症例数を追加することにより客観的な結果を期待できると考える。

## B. 研究方法

遺伝子検体を Affimetrix 社製 SNP チップ、GeneChip Human Mapping 500k Array Set (500,568 SNPs)を用いて、自己免疫性膵炎115検体の全ゲノム網羅的な相関解析 (GWAS)を行った。Gene Analyzer は東海大学に設置してある機器を使用した。Affimetrix 社のビーズチップは国際HapMapプロジェクトのデータをもとにタグ SNP を選択して搭載しており、効率よくゲノム全体をカバーしている2枚のアレイからなりそれぞれ250,000個のSNPのジェノタイプピングが可能で、NspI

と StyI 制限酵素を使用した。具体的方法として、最初に、250ngのゲノムDNAを用いて16-24時間の全ゲノム増幅を行う。これによりDNAは1000倍に増幅される。次に増幅されたDNAを酵素処理により200-300bpのフラグメントに断片化する。断片化されたDNAはビーズ上に配置されたSNP検出用オリゴヌクレオチドとハイブリダイゼーションし、SNP検出反応を行い、抗体による蛍光標識後に専用のスキャナーでシグナルを読み取る。測定された各サンプルのデータは解析ソフトウェアを用いてSNPを判定する。GWASではオッズ比2.5の関連の強さをもつSNPを検出力80%で見つけるためにはケース・コントロール集団ともに840名必要であるが、今回は患者が非常に稀なことから、サンプル入手が困難なことから、現在我々が保有している患者115例分検体を用いた。尚、コントロールのタイピングデータは、最近 Nature Genetics に on line publish (2010,7/11 Mizuki N et al)された766例分をもちいた。健常人のデータと比較し、本疾患に有意と判定されたSNPを同定した。その近傍の感受性候補遺伝子を同定した。さらに本疾患患者の中でIgG4値が>135mg/dlとコントロールとの相関をみた。

GWAS統計解析用のソフトウェアとして HelixTree SVS 7 (Golden Helix, Inc.)を使用した。

(倫理面への配慮)

「自己免疫性膵炎の免疫遺伝学的背景の検討」については、信州大学医学部倫理委員会の承認を受けた(平成20年3月25日承認)。

## C. 研究結果

SNPのquality controlとして、call rate 95%以上、Hardy-Weinberg equilibrium P値