

平成22年 6月21日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19592030

研究課題名（和文） ベーチェット病の遺伝子解析の改良

研究課題名（英文） Novel genetic analysis in Behçet's disease

研究代表者

西出 忠之（NISHIDE TADAYUKI）

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：90347344

研究成果の概要（和文）：ベーチェット病の疾患感受性遺伝子を網羅的に同定するため、日本人ベーチェット病患者 300 検体および日本人健常者 300 検体を対象に、全染色体を網羅する 23,465 個のマイクロサテライトマーカーを用いた遺伝子スクリーニングを行い、ベーチェット病と有意に関連する疾患感受性候補領域を 6 領域に絞り込んだ。

研究成果の概要（英文）：To identify susceptibility genes for Behçet's disease (BD), we performed a genome-wide association study of BD achieved through three rounds of pooled DNA screening using a comprehensive set 23,465 microsatellite markers in 300 Japanese cases and 300 controls, and identified the six best positively associated microsatellites with BD.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2007年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2008年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2009年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：眼科学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：ゲノム、遺伝子、マイクロサテライト、SNP、多因子性遺伝疾患

1. 研究開始当初の背景

(1) 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炎症性疾患であり、口腔内アフタ性潰瘍、眼症状、皮膚症状、外陰部潰瘍の4症状を主症状とする。青壮年期に多く発症し、長期間にわたって再発と寛解を繰り返すため、本病により重度の視力障害を来す患者は少なくない。ベーチェット病の発症機構は未だ明確ではない

が、特定の内的遺伝要因のもとに何らかの外的環境要因が関与して発症する多因子遺伝性疾患と考えられている。ベーチェット病は人種を超えてHLA-B51抗原と強く関連することが報告されており、HLA-B51対立遺伝子が本病の感受性遺伝子であることは間違いなが、本病発症には他の遺伝子の関与も示唆される。しかしながら、本病とHLA-B51以外の他の遺伝子の関連について未だ確証を得

た結果は得られていない。

(2) 多因子疾患の感受性遺伝子同定の戦略としては、①疾患でみられる機能異常などから候補となり得る遺伝子や遺伝子領域をあらかじめ選択して解析を行う「候補遺伝子アプローチ」と②全遺伝子を網羅するように全染色体の解析を行う「ゲノムワイドアプローチ」の2つに大別される。従来、本病の感受性遺伝子同定は「候補遺伝子アプローチ」が主流であったが、本病の分子病理の複雑さゆえに候補領域を予測するのは難しく、感受性遺伝子に辿りつくことができなかつたと考えられる。一方、全染色体を対象とした「ゲノムワイドアプローチ」は、網羅的に感受性遺伝子のマッピングを行うため、予測を超えた領域に存在する遺伝子の同定も可能であり、多因子疾患の遺伝学的解析において非常に有効な戦略である。

(3) したがって、ゲノムワイドに遺伝子スクリーニングを行うことで、ベーチェット病の疾患感受性遺伝子を網羅的に同定できると考えられる。

2. 研究の目的

全染色体を網羅するように設定された23,465個の多型マイクロサテライト (MS) マーカーを用いたゲノムワイドな遺伝子スクリーニングを遂行することにより、ベーチェット病と真に相関する疾患感受性遺伝子を網羅的に同定する。

3. 研究の方法

(1) 日本人ベーチェット病患者300検体および日本人健常者300検体を対象とする。

(2) 全染色体を網羅する23,465個の多型MSマーカーを用いてゲノムワイドな相関解析を行う。

(2) 3段階のpooled DNAスクリーニングおよびindividual DNAスクリーニングによりベーチェット病と真に相関する疾患感受性候補領域を絞り込む。

(3) 絞り込まれた領域の詳細なSNP解析およびMS多型解析を行う。さらに、ハプロタイプ解析および連鎖不平衡解析を行い、疾患感受性遺伝子を同定する。

4. 研究成果

(1) 日本人ベーチェット病患者 300 検体および健常者 300 検体を対象としたゲノムワイドな相関解析 (3 段階の pooled DNA スクリーニング) により、ベーチェット病の疾患感受性候補領域を 147 領域に絞り込んだ。

(2) 絞り込まれた 147 候補領域を対象に individual DNA スクリーニングを行い、候補領域をさらに 6 領域に絞り込んだ。

(3) 絞り込まれた 6 領域を対象とした詳細な MS 多型解析および SNP 解析により、ベーチェット病と有意に相関する 3 遺伝子領域 (HLA-A、HLA-B、ROB01) を見出した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件)

- 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. *Nature Genetics* 2010, in press.
- ② 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: 462-466.
- ③ 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* 2010; 69: 747-754.
- ④ Tomiyama R, Meguro A, Ota M, Katsuyama Y, Nishide T, Uemoto R, Iijima Y, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Investigation of the association between TLR2 gene polymorphisms and Behcet's disease in Japanese patients. *Human Immunol* 2009; 70(1): 41-44.
- ⑤ Horie Y, Meguro A, Ota M, Kitaichi N, Katsuyama Y, Takemoto Y, Namba K, Yoshida K, Song YW, Park KS, Lee EB, Inoko H, Mizuki N, Ohno S. Association of TLR4 polymorphisms with Behcet's disease in a Korean population. *Rheumatology* 2009; 48(6): 638-642.

- ⑥ Nakamura J, Meguro A, Ota M, Nomura E, Nishide T, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Association of toll-like receptor 2 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. *Mol Vis* 2009; 15: 2905-2910.
- ⑦ Asukata Y, Ota M, Meguro A, Katsuyama Y, Ishihara M, Namba K, Kitaichi N, Morimoto S, Kaburaki T, Ando Y, Takenaka S, Inoko H, Ohno S, Mizuki N. Lack of association between toll-like receptor 4 gene polymorphisms and sarcoidosis-related uveitis in Japan. *Mol Vis* 2009; 15: 2673-2682.
- ⑧ Nishizaki R, Ota M, Inoko H, Meguro A, Shiota T, Okada E, Mok J, Oka A, Ohno S, Mizuki N. New susceptibility locus for high myopia is linked to the uromodulin-like 1 (UMODL1) gene region on chromosome 21q22.3. *Eye* 2009; 23(1): 222-229.
- ⑨ Kamio Y, Meguro A, Ota M, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Investigation of the association between the GLC3A locus and normal tension glaucoma in Japanese patients by microsatellite analysis. *Clinical Ophthalmol* 2009; 3: 183-188.
- ⑩ Nakamura K, Ota M, Meguro A, Nomura N, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Association of microsatellite polymorphisms of the GPDS1 locus with normal tension glaucoma in the Japanese population. *Clinical Ophthalmol* 2009; 3: 307-312.
- ⑪ Shibuya E, Meguro A, Ota M, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(10): 4453-4457.
- ⑫ Meguro A, Ota M, Katsuyama Y, Oka A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Association of the toll-like receptor 4 gene polymorphisms with Behçet's disease. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(5): 725-727.
- ⑬ Kamiishi T, Itoh Y, Meguro A, Nishida T, Sasaki S, Nanba K, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Four-digit allele genotyping of HLA-A and HLA-B genes in Japanese patients with Behçet's disease (BD) by a PCR-SSOP-luminex method and stratification analysis according to each major symptom of BD. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2008; 112(5): 451-458.
- ⑭ Mizuki N, Meguro A, Tohna I, Gül A, Ohno S, Mizuki N. Association of major histocompatibility complex class I chain-related gene A and HLA-B alleles with Behçet's disease in Turkey. *Jpn J Ophthalmol* 2007; 51(6): 431-436.
- ⑮ Sasaki S, Ota M, Meguro A, Nishizaki R, Okada E, Mok J, Kimura T, Oka A, Katsuyama Y, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. A single nucleotide polymorphism analysis of the LAMA1 gene in Japanese patients with high myopia. *Clinical Ophthalmol* 2007; 1(3): 289-295.
- ⑯ Yamane T, Mok J, Oka A, Okada E, Nishizaki R, Meguro A, Yonemoto J, Kulski JK, Ohno S, Inoko H, Mizuki N. Lack of association with high myopia and the MYP2 locus in the Japanese population by high resolution microsatellite analysis on chromosome 18. *Clinical Ophthalmol* 2007; 1(3): 311-316.

[学会発表] (計 2 件)

- ① Meguro A, Mizuki N, Ohno S. Molecular genetic studies on Behçet's disease in Japan. The 10th International Ocular Inflammation Society Congress, Prague, Czech Republic, June, 2009.
- ② Meguro A, Mizuki N. Whole genome association study on Behçet's disease. Japan and Korea Joint Meeting on Behçet's disease, Yokohama, Japan, July, 2007.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西出 忠之 (NISHIDE TADAYUKI)

横浜市立大学・医学部・助教
研究者番号：90347344

(2)研究分担者

水木 信久 (MIZUKI NOBUHISA)
横浜市立大学・医学研究科・教授
研究者番号：90336579

伊藤 典彦 (ITO NORIHIKO)
横浜市立大学・医学部・助教
研究者番号：80264654

(3)連携研究者

大野 重昭 (OHNO SHIGEAKI)
北海道大学大学院・医学研究科・特任教授
研究者番号：50002382

猪子 英俊 (INOKO HIDETOSHI)
東海大学・医学部・教授
研究者番号：10101932