

PCR-SSOP-Luminex 法を用いた日本人 Behçet 病患者における 症状別 HLA-A, -B 遺伝子解析

上石 智子¹⁾, 伊藤 良樹¹⁾, 目黒 明¹⁾, 西田 朋美¹⁾, 佐々木 爽¹⁾
南場 研一²⁾, 大野 重昭²⁾, 猪子 英俊³⁾, 水木 信久¹⁾

¹⁾横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学, ²⁾北海道大学大学院医学研究科視覚器病学

³⁾東海大学医学部分子生命科学遺伝情報部門

要 約

目 的: 日本人 Behçet 病 (BD) 患者の HLA-A およ
び -B 遺伝子のアリル (対立遺伝子) タイピングを行い,
病型, 症状別に解析した。

対象と方法: 患者 389 人と健常者 254 人を対象に,
PCR-SSOP-Luminex 法を用いて HLA-A および -B 遺
伝子のアリルタイピングを行い, 各々のアリル保有率を両
群で比較した。

結 果: HLA-A および -B 遺伝子の複数のアリルが
本病と有意に相関した。HLA-B*51 アリルによる遺
伝的連鎖不平衡の影響を除外するため, HLA-B 51 抗原陰
性者を対象にアリル保有率を比較したところ, HLA-A*
2601 が患者群で有意に増加していた。特に完全型患者

群および眼症状を有する患者群で顕著に相関していた。
また, HLA-A*2602 が眼症状を有する患者群, 皮膚症
状を欠く患者群で有意に相関していた。

結 論: HLA-A*26 アリル (特に A*2601) が HLA-B
51 抗原陰性の患者群で有意に増加しており, 本病の病
態修飾に影響を与える HLA-B*5101 以外の第二の疾患
感受性遺伝子である可能性が示唆された。(日眼会誌
112: 451—458, 2008)

キーワード: HLA-A*2601, Behçet 病, PCR-SSOP-
Luminex 法, アリルタイピング

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

Tomoko Kamiishi¹⁾, Yoshiki Itoh¹⁾, Akira Meguro¹⁾, Tomomi Nishida¹⁾, Sayaka Sasaki¹⁾
Kenichi Nanba²⁾, Shigeaki Ohno²⁾, Hidetoshi Inoko³⁾ and Nobuhisa Mizuki¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology and Visual Science, Yokohama City University Graduate School of Medicine

²⁾Department of Ophthalmology and Visual Science, Hokkaido University Graduate School of Medicine

³⁾Department of Molecular Life Science, Division of Molecular Medical Science and Molecular Medicine,
Tokai University School of Medicine

Abstract

Purpose: High resolution (four-digit) allele geno-
typing was used to determine the association of the
HLA-A and -B alleles with Behçet's disease (BD) in
Japanese patients. We also analyzed our results for
the association of these alleles with the individual
clinical features of BD.

Subjects and Methods: We enrolled 389 Japanese
BD patients and 254 healthy controls in this study.
Genotyping of the HLA-A, -B alleles was performed
by the PCR-SSOP-Luminex method and the phenotype
frequencies of the HLA-A, and -B alleles were esti-
mated.

Results: Some HLA-A and -B alleles were signifi-
cantly associated with BD. When we recalculated the
phenotype frequencies for the HLA-B*51-negative
subjects to exclude the effects of the linkage disequilib-

rium with the HLA-B*51 allele, HLA-A*2601 was most
strongly associated with BD. In addition, we observed
a significant association between several clinical
features and some alleles, including HLA-A*2602.

Conclusion: The significant increase of HLA-A*
26 in the BD patients without HLA-B*51 suggests that
this allele itself might be one of the primary suscep-
tibility genes involved in the development of BD
independently of HLA-B*51.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc
112: 451—458, 2008)

Key words: HLA-A*2601, Behçet's disease, PCR-
SSOP-Luminex method, Four-digit allele
genotyping

別刷請求先: 236-0004 横浜市金沢区福浦 3—9 横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学 上石 智子
(平成 19 年 7 月 25 日受付, 平成 19 年 12 月 13 日改訂受理) E-mail: kotomoaka.21@yahoo.co.jp

Reprint requests to: Tomoko Kamiishi, M.D. Department of Ophthalmology and Visual Science, Yokohama City
University Graduate School of Medicine, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa 236-0004, Japan

(Received July 25, 2007 and accepted in revised form December 13, 2007)

I 緒 言

Behçet 病 (BD) 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、再発性口腔内アフタ、眼症状、皮膚症状、外陰部潰瘍を 4 主症状とする。本病の病因ははまだ明確ではないが、本病は特定の内的遺伝素因のもとに何らかの外的環境要因が働いて発症する多因子性遺伝疾患であると考えられている¹⁾²⁾。本病は人種を超えてヒトの主要組織適合抗原である HLA (human leukocyte antigen) の特定のタイプ、HLA-B*51 抗原と顕著に相関することが知られている^{3)~5)}。HLA-B*51 抗原は遺伝的に HLA-B*5101~B*5148 のアミノ酸変異を伴う 47 種類のサブタイプ (アレル: 対立遺伝子, HLA-B*5125 は抹消) に分類されるが、日本人では本病と相関するアレルは主に HLA-B*5101 であることが報告されている⁶⁾⁷⁾。

近年、配列特異的なオリゴ DNA プローブを蛍光ビーズに固相することで最大 100 種類の変異の有無が同時に検出可能な技術である蛍光マイクロアレイビーズシステム (Luminex システム) が開発された。HLA の遺伝子型判定法は PCR-SSO (polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide) 法, PCR-SSP (PCR-sequence specific primer) 法, および PCR-SBT (PCR-sequence based typing) 法など多様な方法を用いたキットが製品化されているが、従来のキットでは日本人の遺伝子型に対応していないものが多く、2 桁レベル (抗原レベル) の型判定では問題とならないが、4 桁レベル (対立遺伝子レベル) では日本人に存在する遺伝子型で判別不能な場合がある。また、4 桁判定が可能なキットにおいても、まれな遺伝子型との識別不能 (ambiguity) の問題がある。蛍光ビーズを用いた Luminex 法は、簡便、正確かつ短時間で多検体処理が可能な新しい遺伝子多型判別法であり^{8)~10)}、我々は、Luminex システムを応用することで、大量検体をハイスループット化して日本人の HLA-A, -B, -C および-DRB1 遺伝子型を高精度で判定する PCR-SSOP-Luminex (PCR-sequence specific oligonucleotide probes-Luminex) 法を開発した。共同研究者の Itoh らは、この方法で日本人 BD 患者の HLA-A および-B 遺伝子の 4 桁アレルタイピングを行い、その結果を報告している¹¹⁾¹²⁾。この PCR-SSOP-Luminex 法を用いることで、HLA-A および-B 遺伝子の 4 桁アレルタイピングを 99.9% 以上の正確な確率で迅速に行うことができた¹¹⁾¹²⁾。本研究では、Itoh らの報告をもとに、より多くの BD 患者群および健常群を対象にして、PCR-SSOP-Luminex 法を用いた HLA-A, -B 遺伝子のアレルタイピングを行い、病型別 (完全型, 不全型) および症状別 (眼症状, 皮膚症状, 外陰部潰瘍) のアレル保有率を比較検討した。

II 対象と方法

横浜市立大学眼科または北海道大学眼科ぶどう膜外来にて BD と診断された患者 389 例を患者群として用いた。対照には血縁関係が確認されない健常日本人 254 例を用い健常群とした。患者群の内訳は男性 223 検体, 女性 166 検体, 完全型 156 検体, 不全型 212 検体, 眼症状 316 検体, 皮膚症状 326 検体, 外陰部潰瘍 239 検体であった。HLA-B*51 抗原陰性群でのアレル保有率の比較ではアレルタイピングの結果において、HLA-B*51 アレル陰性と判定された検体を使用した。

本研究はすべての患者および健常者に対して、本研究の趣旨および安全性と危険性について十分説明し、文書による同意を得たうえで行った。また、本研究は横浜市立大学医学部倫理委員会および北海道大学医学部倫理委員会においてヒトゲノム・遺伝子研究として承認を受けたものである。

末梢血よりゲノム DNA を抽出後、我々の既報¹¹⁾の PCR-SSOP-Luminex 法プロトコールに基づき、日本人 BD 患者と健常者の 4 桁アレルタイピングを行った。BD 患者と健常者のアレル保有率を病型別 (完全型, 不全型), 症状別 (眼症状, 皮膚症状, 外陰部潰瘍) に分類し、比較, 検討した。また、BD と顕著な相関が報告されている HLA-B*51 アレルによる連鎖不平衡の影響を除外するため、HLA-B*51 アレルを保有しない患者と健常者を対象にして再集計し、同様に HLA アレル保有率を病型, 症状別に比較, 検討した。統計処理は Bonferroni 補正法を用い Fisher の p 検定により行った。

III 結 果

1. 患者群全体での比較 (表 1, 2)

患者群全体を健常群と比較すると、B*5101 が従来の報告どおり患者群で顕著に増加していた [Pc (corrected p value) = 8.09×10^{-13} , OR (odds ratio) = 3.65]。一方、A*3303, B*5401 は患者群で有意に減少していた (A*3303 : Pc = 0.031, OR = 0.46. B*5401 : Pc = 0.00086, OR = 0.36)。

病型別でみると、完全型患者群では、A*2601 と B*5101 が有意に増加しており (A*2601 : Pc = 0.0016, OR = 2.54. B*5101 : Pc = 1.18×10^{-11} , OR = 4.32), A*3303 と B*5401 が有意に減少していた (A*3303 : Pc = 0.012, OR = 0.29. B*5401 : Pc = 0.0072, OR = 0.27)。不全型患者群では、B*5101 が有意に増加し (Pc = 1.33×10^{-8} , OR = 3.38), B*5401 が有意に減少していた (Pc = 0.018, OR = 0.36)。

症状別では、眼症状を有する患者群において A*2601 と B*5101 が有意に増加し (A*2601 : Pc = 0.016, OR = 2.03. B*5101 : Pc = 1.38×10^{-13} , OR = 3.91), A*3303, B*5401 が有意に減少していた (A*3303 : Pc = 0.0060,

OR=0.38. B*5401 : Pc=4.80×10⁻⁵, OR=0.26). 眼症状を欠く患者群では, B*5101 が有意な増加を示した(Pc=0.011, OR=2.70). 皮膚症状を有する患者群では, B*5101 が有意に増加しており(Pc=1.36×10⁻¹³, OR=3.91), B*5401 が有意に減少していた(Pc=0.0016, OR=0.35). 皮膚症状を欠く患者群では, A*2602 と B*5101 が有意に増加していた(A*2602 : Pc=0.010, OR=5.48. B*5101 : Pc=0.038, OR=2.63). 外陰部潰瘍を有する患者群では A*2601, B*5101 が有意に増加し(A*2601 : Pc=0.035, OR=2.01. B*5101 : Pc=3.27×10⁻¹¹, OR=3.74), A*3303, A*5401 が有意に減少していた(A*3303 : Pc=0.029, OR=0.41. B*5401 : Pc=0.024, OR=0.39). 外陰部潰瘍を欠く患者群では B*5101 が有意に増加し(Pc=8.03×10⁻⁸, OR=3.52), B*5401 が有意な減少を示した(Pc=0.017, OR=0.30).

2. HLA-B51 抗原陰性群での比較(表 3, 4)

HLA-B51 抗原陰性群における比較では, 患者群で A*2601 が有意に増加していた(Pc=0.0097, OR=2.27). HLA-B 遺伝子では, 有意な相関(増減)を示すアリルはみられなかった.

病型別でみると, 完全型患者群で A*2601 が顕著に増加していたが(Pc=0.00067, OR=3.30), 不全型患者群では, A*2601 は相対的に増加はしているものの, 統計学的に有意には至っていなかった. HLA-B 遺伝子では, 病型別にみても, HLA-B51 抗原陰性群の比較では有意な相関を示すアリルはみられなかった.

症状別では, 眼症状を有する患者群で, A*2601 が顕著に増加していた(Pc=0.0011, OR=2.63). 皮膚症状および外陰部潰瘍を有する患者群でも A*2601 は有意に増加していたが, HLA-B51 抗原陰性患者群全体での有意差と同等であった(皮膚症状 : Pc=0.014, OR=2.32. 外陰部潰瘍 : Pc=0.025, OR=2.33). また, HLA-A*26 アリルのサブタイプである A*2602 が眼症状を有する患者群および皮膚症状を欠く患者群で有意に増加していた(眼症状 : Pc=0.049, OR=3.63. 皮膚症状欠 : Pc=0.0088, OR=6.82). 一方, HLA-B 遺伝子では, 眼症状を有する群で B*5401

表 1 病型および症状別の HLA-A アリル保有率

HLA アリル	健康群 (n=254)		全 BD 患者 (n=389)		病型		眼症状		皮膚症状		外陰部潰瘍	
			完全型 (n=156)	不全型 (n=212)	有 (n=316)	無 (n=73)	有 (n=326)	無 (n=63)	有 (n=239)	無 (n=150)	有 (n=239)	無 (n=150)
A*0101	2	0.8%	4	1.0%	4	1.3%	0	0.0%	4	1.2%	3	1.3%
A*0201	64	25.2%	81	20.8%	63	19.9%	18	24.7%	69	21.2%	41	17.2%
A*0206	51	20.1%	58	14.9%	54	17.1%	4	5.5%	50	15.3%	34	14.2%
A*0207	16	6.3%	28	7.2%	21	6.6%	7	9.6%	24	7.4%	19	7.9%
A*0210	3	1.2%	1	0.3%	1	0.3%	0	0.0%	1	0.3%	1	0.4%
A*0301	1	0.4%	1	0.3%	1	0.3%	0	0.0%	1	0.3%	0	0.0%
A*1101	47	18.5%	48	12.3%	37	11.7%	11	15.1%	41	12.6%	32	13.4%
A*2401	0	0.0%	1	0.3%	1	0.3%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
A*2402	142	55.9%	236	60.7%	190	60.1%	45	61.6%	196	60.1%	147	61.5%
A*2420	5	2.0%	3	0.8%	2	0.6%	1	1.4%	3	0.9%	3	1.3%
A*2601	34	13.4%	88	22.6%	48	30.8%**2	7	9.6%	72	22.1%	60	25.1%**7
A*2602	8	3.1%	26	6.7%	23	7.3%	3	4.1%	16	4.9%	15	6.3%
A*2603	10	3.9%	23	5.9%	20	6.3%	3	4.1%	20	6.1%	15	6.3%
A*2605	0	0.0%	2	0.5%	1	0.3%	1	1.4%	2	0.6%	2	0.8%
A*3001	1	0.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
A*3101	47	18.5%	89	22.9%	37	23.7%	69	21.8%	77	23.6%	56	23.4%
A*3303	42	16.5%	31	8.0%**1	8	5.1%**3	21	6.6%**5	27	8.3%	17	7.1%**8

*1 : Pc=0.031, OR=0.46. *2 : Pc=0.0016, OR=2.54. *3 : Pc=0.012, OR=0.29. *4 : Pc=0.016, OR=2.03. *5 : Pc=0.0060, OR=0.38. *6 : Pc=0.010, OR=5.48. *7 : Pc=0.035, OR=2.01. *8 : Pc=0.029, OR=0.41. BD : Behçet 病, Pc : corrected p value, OR : odds ratio.

表 2 病型および症状別の HLA-B アリル保有率

HLA アリル	健全群 (n=254)			全 BD 患者 (n=389)		病型		眼症状		皮膚症状		外陰部潰瘍																			
	24	8	1	25	2	5	8	3	10	19	26	4	4	23	7																
																9.4%	3.1%	0.4%	9.8%	0.8%	2.0%	3.1%	5.8%	0.0%	10.1%	3.2%	7.9%	0.0%	10.5%	3.8%	8.0%
B*0702	14	3	0	14	0	9	1	3	23	49	39	13	32	32	21																
B*1301	3	0	0	3	0	5	0	3	6	5	0	1	4	0	2																
B*1302	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																
B*1501	14	0	0	32	1	10	4	5	23	15	27	3	15	15	15																
B*1507	0	3	1	3	3	8	2	4	10	25	1	2	0	0	3																
B*1511	5	14	3	5	8	3	4	5	12	27	1	2	15	15	15																
B*1518	8	2	0	9	5	15	1	4	19	39	1	5	32	32	21																
B*1528	0	1	0	0	1	9	0	0	1	5	0	0	0	0	2																
B*2704	0	3	0	1	2	1	0	0	3	3	3	0	1	1	2																
B*3501	40	15	53	23	29	14	3	4	49	15	39	13	32	21																	
B*3701	2	0	6	4	2	2	0	0	6	1	5	1	4	2																	
B*3802	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																	
B*3901	17	6	30	11	18	7	5	6	25	7	27	3	15	15																	
B*3902	0	0	3	0	2	0	1	1	2	1	1	2	0	3																	
B*3904	4	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0																	
B*4001	29	11	34	9	22	5	6	8	28	8	28	6	15	19																	
B*4002	38	15	55	30	20	19	8	11	48	15	46	9	38	17																	
B*4003	3	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0																	
B*4006	26	10	28	12	15	7	4	5	23	7	22	5	19	8																	
B*4402	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	1	1	0	2																	
B*4403	40	15	34	10	21	6	11	15	23	7	30	4	19	15																	
B*4601	21	8	33	17	25	10	13	17	30	9	38	5	31	12																	
B*4801	21	8	16	3	11	1	3	4	13	4	14	4	6	10																	
B*5101	41	16	185	83	96	53	28	38	157	49	163	23	115	70																	
B*5102	0	0	6	1	3	1	3	4	3	0	5	1	4	2																	
B*5201	47	18	59	21	34	13	13	17	45	14	46	12	36	23																	
B*5401	47	18	59	8	15	5	11	15	16	5	22	5	18	9																	
B*5502	11	4	15	4	11	2	2	2	13	4	12	3	8	7																	
B*5504	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0																	
B*5601	7	2	6	2	3	1	3	4	3	0	5	1	3	3																	
B*5603	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0																	
B*5801	5	2	1	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0																	
B*5901	12	4	15	7	6	2	3	4	12	3	12	3	9	6																	
B*6701	5	2	5	3	2	0	1	1	4	1	5	0	4	1																	

*1 : Pc=8.09×10⁻¹³, OR=3.65. *2 : Pc=0.00086, OR=0.36. *3 : Pc=1.18×10⁻¹¹, OR=4.32. *4 : Pc=0.0072, OR=0.27. *5 : Pc=1.33×10⁻⁸, OR=3.38. *6 : Pc=0.018, OR=0.36. *7 : Pc=1.38×10⁻¹³, OR=3.91. *8 : Pc=4.80×10⁻⁵, OR=0.26. *9 : Pc=0.011, OR=2.70. *10 : Pc=1.36×10⁻¹³, OR=3.91. *11 : Pc=0.0016, OR=0.35. *12 : Pc=0.038, OR=2.63. *13 : Pc=3.27×10⁻¹¹, OR=3.74. *14 : Pc=0.024, OR=0.39. *15 : Pc=8.03×10⁻⁸, OR=3.52. *16 : Pc=0.017, OR=0.30.

が有意に減少していた (Pc=0.021, OR=0.34).

IV 考 按

ヒト第 6 染色体短腕部セントロメア側に位置する HLA 領域の各遺伝子座は、ヒト遺伝子の中で最も多型性に富みアレル数が多い。その主な構成遺伝子である HLA-A 座では 28 抗原 545 アレル, HLA-B 座では 59 抗原 894 アレル, HLA-DR 座では 24 抗原 580 アレルが報告されている (IMGT/HLA Database : <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/>). 血清学的検査法を用いた HLA 抗原の新たな検出はもはや限界に近いが、遺伝子検査の普及による遺伝子レベルの検索ではアレル数が今もなお増加し続けている。HLA は自己-非自己を識別する細胞膜表面分子で、抗原ペプチドを T 細胞に提示することで、免疫担当細胞間の相互作用やその活性化に重要な役割を担っている。そのため HLA は疾患発症の感受性を規定する要因の一つと考えられており、BD, 1 型糖尿病, 関節リウマチなど多くの疾患でその感受性との関連が示唆されている¹³⁾⁻¹⁵⁾。

HLA クラス I 遺伝子 (HLA-A, -B, -C 遺伝子) は、血清学的レベルでの多型性が高く、DNA タイピング方法は不可避的に煩雑となる。HLA の各抗原およびアレルは人種や民族によってその頻度が異なっている¹⁶⁾。日本人集団を対象とした HLA の各抗原やアレル頻度の報告も多く、日本人に特徴的なアレルやハプロタイプも報告されている¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。このため、世界中で報告されているすべてのアレルを対象としてアレルレベルの判定を行うには、多数のプロープが必要となり、PCR-Luminex 法を用いた場合でも非常に複雑な方法になってしまう。しかし、対象とするアレルを日本人集団で報告されているものに限定することにより、日本人の 4 桁レベルのアレルタイピングを迅速かつ高精度に行うことが可能となった¹¹⁾。

本研究において、HLA-A では 17 アレル、HLA-B では 34 アレルが同定された。今回の日本人の BD 患者群および健常群のアレル頻度は過去の報告と同様であった。日本人の BD 患者は HLA-B*5101 と顕著に相関していることが再確認された。また、患者群全体で有意に減少していた HLA-A*3303, HLA-B*5401 は、HLA-B51 抗原陰性群と比較すると、その有意差は消失した。したがって、これらのア

表 3 HLA-B*51 抗原陰性群における病型および症状別の HLA-A アレル保有率

HLA アレル	健常群 (n=213)		全 BD 患者 (n=199)		病 型		眼症状		皮膚症状		外陰部潰瘍					
	完全型 (n=72)	不全型 (n=114)	完全型 (n=72)	不全型 (n=114)	有 (n=157)	無 (n=42)	有 (n=159)	無 (n=40)	有 (n=121)	無 (n=78)	有 (n=121)	無 (n=78)				
A*0101	2	0.9%	2	1.0%	1	1.4%	1	0.9%	2	1.3%	0	0.0%	1	0.8%	1	1.3%
A*0201	56	26.3%	44	22.1%	12	16.7%	32	28.1%	34	21.7%	10	23.8%	38	23.9%	6	15.0%
A*0206	46	21.6%	26	13.1%	12	16.7%	14	12.3%	24	15.3%	2	4.8%	21	13.2%	5	12.5%
A*0207	14	6.6%	16	8.0%	4	5.6%	11	9.6%	11	7.0%	5	11.9%	13	8.2%	3	7.5%
A*0210	2	0.9%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
A*0301	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%	1	0.9%	1	0.6%	0	0.0%	1	0.6%	0	0.0%
A*1101	38	17.8%	30	15.1%	13	18.1%	14	12.3%	22	14.0%	8	19.0%	23	14.5%	7	17.5%
A*2401	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
A*2402	119	55.9%	118	59.3%	39	54.2%	71	62.3%	89	56.7%	28	66.7%	93	58.5%	24	60.0%
A*2420	3	1.4%	2	1.0%	1	1.4%	1	0.9%	1	0.6%	1	2.4%	2	1.3%	0	0.0%
A*2601	30	14.1%	58	29.1%	29	40.3%	27	23.7%	52	33.1%	5	11.9%	47	29.6%	10	25.0%
A*2602	7	3.3%	20	10.1%	4	5.6%	14	12.3%	18	11.5%	2	4.8%	12	7.5%	8	20.0%
A*2603	9	4.2%	10	5.0%	7	9.7%	3	2.6%	9	5.7%	1	2.4%	9	5.7%	1	2.5%
A*2605	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%	1	0.9%	0	0.0%	1	2.4%	1	0.6%	0	0.0%
A*3001	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
A*3101	30	14.1%	22	11.1%	9	12.5%	9	7.9%	17	10.8%	5	11.9%	17	10.7%	5	12.5%
A*3303	38	17.8%	19	9.5%	5	6.9%	11	9.6%	13	8.3%	6	14.3%	15	9.4%	4	10.0%

*1 : Pc=0.0097, OR=2.27. *2 : Pc=0.00067, OR=3.30. *3 : Pc=0.0011, OR=2.63. *4 : Pc=0.049, OR=3.63. *5 : Pc=0.014, OR=2.32. *6 : Pc=0.0088, OR=6.82. *7 : Pc=0.025, OR=2.33.

レルと BD の有意な相関は HLA-B*51 アレルとの遺伝的連鎖不平衡による二次的な結果と考えられた。一方、HLA-A*2601 は HLA-B51 抗原陰性群の比較で、患者群において有意な増加を示し、HLA-B*51 アレルに連鎖することなく BD 発症のリスクを上げていた。したがっ

表 4 HLA-B*51 抗原陰性群における病型および症状別の HLA-B アリル保有率

HLA アリル	健康群 (n=213)		全BD患者 (n=199)		病型		眼症状		皮膚症状		外陰部潰瘍									
	n	%	n	%	完全型	不全型	有	無	有	無	有	無								
					(n=72)	(n=114)	(n=157)	(n=42)	(n=159)	(n=40)	(n=121)	(n=78)								
B*0702	20	9.4%	19	9.5%	6	8.3%	11	9.6%	13	8.3%	6	14.3%	15	9.4%	4	10.0%	13	10.7%	6	7.7%
B*1301	8	3.8%	5	2.5%	3	4.2%	2	1.8%	5	3.2%	0	0.0%	4	2.5%	1	2.5%	3	2.5%	2	2.6%
B*1302	1	0.5%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
B*1501	26	12.2%	26	13.1%	12	16.7%	13	11.4%	20	12.7%	6	14.3%	24	15.1%	2	5.0%	18	14.9%	8	10.3%
B*1507	0	0.0%	3	1.5%	0	0.0%	3	2.6%	1	0.6%	2	4.8%	3	1.9%	0	0.0%	2	1.7%	1	1.3%
B*1511	5	2.3%	9	4.5%	2	2.8%	6	5.3%	5	3.2%	4	9.5%	7	4.4%	2	5.0%	6	5.0%	3	3.8%
B*1518	8	3.8%	18	9.0%	8	11.1%	10	8.8%	17	10.8%	1	2.4%	15	9.4%	3	7.5%	11	9.1%	7	9.0%
B*1528	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
B*2704	0	0.0%	1	0.5%	0	0.0%	1	0.9%	1	0.6%	0	0.0%	1	0.6%	0	0.0%	0	0.0%	1	1.3%
B*3501	38	17.8%	44	22.1%	19	26.4%	25	21.9%	41	26.1%	2	4.8%	31	19.5%	12	30.0%	27	22.3%	17	21.8%
B*3701	2	0.9%	3	1.5%	2	2.8%	1	0.9%	3	1.9%	0	0.0%	2	1.3%	1	2.5%	2	1.7%	1	1.3%
B*3802	2	0.9%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
B*3901	16	7.5%	23	11.6%	9	12.5%	14	12.3%	20	12.7%	3	7.1%	21	13.2%	2	5.0%	12	9.9%	11	14.1%
B*3902	0	0.0%	3	1.5%	0	0.0%	2	1.8%	2	1.3%	1	2.4%	1	0.6%	2	5.0%	0	0.0%	3	3.8%
B*3904	4	1.9%	1	0.5%	1	1.4%	0	0.0%	1	0.6%	0	0.0%	1	0.6%	0	0.0%	1	0.8%	0	0.0%
B*4001	28	13.1%	24	12.1%	6	8.3%	17	14.9%	19	12.1%	5	11.9%	21	13.2%	3	7.5%	12	9.9%	12	15.4%
B*4002	31	14.6%	38	19.1%	17	23.6%	17	14.9%	32	20.4%	6	14.3%	30	18.9%	8	20.0%	23	19.0%	15	19.2%
B*4003	3	1.4%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
B*4006	22	10.3%	22	11.1%	9	12.5%	13	11.4%	19	12.1%	3	7.1%	17	10.7%	5	12.5%	15	12.4%	7	9.0%
B*4402	1	0.5%	2	1.0%	0	0.0%	2	1.8%	2	1.3%	0	0.0%	1	0.6%	1	2.5%	0	0.0%	2	2.6%
B*4403	35	16.4%	21	10.6%	8	11.1%	10	8.8%	15	9.6%	6	14.3%	18	11.3%	3	7.5%	12	9.9%	9	11.5%
B*4601	17	8.0%	29	14.6%	10	13.9%	18	15.8%	20	12.7%	9	21.4%	25	15.7%	4	10.0%	20	16.5%	9	11.5%
B*4801	21	9.9%	11	5.5%	2	2.8%	7	6.1%	9	5.7%	2	4.8%	9	5.7%	2	5.0%	4	3.3%	7	9.0%
B*5201	45	21.1%	38	19.1%	14	19.4%	20	17.5%	28	17.8%	9	21.4%	28	17.6%	9	22.5%	24	19.8%	14	17.9%
B*5401	45	21.1%	20	10.1%	4	5.6%	12	10.5%	12	7.6%*1	8	19.0%	15	9.4%	5	12.5%	11	9.1%	9	11.5%
B*5502	9	4.2%	11	5.5%	2	2.8%	9	7.9%	9	5.7%	2	4.8%	8	5.0%	3	7.5%	6	5.0%	5	6.4%
B*5504	6	2.8%	2	1.0%	0	0.0%	2	1.8%	0	0.0%	2	4.8%	2	1.3%	0	0.0%	2	1.7%	0	0.0%
B*5601	3	1.4%	3	1.5%	0	0.0%	3	2.6%	1	0.6%	2	4.8%	2	1.3%	1	2.5%	1	0.8%	2	2.6%
B*5603	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
B*5801	5	2.3%	1	0.5%	0	0.0%	1	0.9%	1	0.6%	0	0.0%	0	0.0%	1	2.5%	1	0.8%	0	0.0%
B*5901	10	4.7%	9	4.5%	5	6.9%	3	2.6%	7	4.5%	2	4.8%	7	4.4%	2	5.0%	6	5.0%	3	3.8%
B*6701	4	1.9%	4	2.0%	3	4.2%	1	0.9%	3	1.9%	1	2.4%	4	2.5%	0	0.0%	4	3.3%	0	0.0%

*1 : P<0.021, OR=0.34.

て、HLA-A*2601 は BD の発症および病態形成に関与する HLA-B*5101 以外の第二の疾患感受性遺伝子である可能性が示唆された。近年、Mizuki らはギリシャ人 BD 患者を対象にした HLA 遺伝子解析において、HLA-A26 抗原陽性率が患者群で有意に上昇することを示しており、Mizuki らの結果は本研究の HLA-A*2601 と BD の有意な相関を支持するものである²⁰⁾。

患者群全体でみると、病型別解析で、完全型、不全型

ともに HLA-B*5101 が有意に増加していたが、完全型の方が顕著に増加していた。一方、HLA-A*2601 は完全型で有意に増加していたが、不全型では相関を示さなかった。症状別解析では、HLA-B*5101 は各症状の有無にかかわらず有意に増加していたが、眼症状を欠く患者群、皮膚症状を欠く患者群での相関は、他の患者群に比して相対的に弱かった。一方、HLA-A*2601 は眼症状または外陰部潰瘍を有する患者群で有意に相関してい

た。皮膚症状では、その有無にかかわらず HLA-A*2601 は相対的に増加していた。HLA-B51 抗原陰性群でみると、HLA-A*2601 は、完全型患者群や、眼症状を有する患者群で特に有意に増加しており、それぞれの有意差は HLA-B51 抗原陰性患者群全体での相関よりも強固であった。また、HLA-A*26 アリルの他のサブタイプである HLA-A*2602 が眼症状を有する患者群および皮膚症状を欠く患者群で有意に増加していた。

以上のことより、HLA-B*5101 は、病型別、症状別解析で若干の違いはあるものの、各病型、各症状群で同様に増加しており、本病の発症および病態形成に本質的に関与していると考えられた。一方、HLA-A*26 アリル (特に A*2601) は特に完全型患者群や、眼症状を有する患者群でより強く相関しており、本病発症および病態修飾に影響を与えている可能性が考えられた。

V 結 論

HLA-A*26 アリル (特に A*2601) は HLA-B*5101 と遺伝的連鎖不平衡はなく、HLA-B51 抗原陰性患者群で有意に増加していた。特に完全型患者群や、眼症状を有する患者群で強く相関しており、本病の発症および病態修飾にかかわる HLA-B*5101 以外の第二の疾患感受性遺伝子である可能性が考えられた。

文 献

- 1) Mizuki N, Inoko H, Ohno S : Pathogenic gene responsible for the predisposition of Behçet's disease. *Int Rev Immunol* 14 : 33—48, 1997.
- 2) Mizushima Y : Recent research into Behçet's disease in Japan. *Int J Tissue React* 10 : 59—65, 1988.
- 3) Mizuki N, Ohno S, Tanaka H, Sugimura K, Seki T, Mizuki N, et al : Association of HLA-B 51 and lack of association of class II alleles with Behçet's disease. *Tissue Antigens* 44 : 22—30, 1992.
- 4) Mizuki N, Inoko H, Mizuki N, Tanaka H, Kera J, Tsuji K, et al : Human leukocyte antigen serologic and DNA typing of Behçet's disease and its primary association with B51. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33 : 3332—3340, 1992.
- 5) Mizuki N, Ohno S, Nakamura S, Mizuki N, Mizuki H, Sugimura K, et al : Searching for the gene (s) within the HLA region responsible for the susceptibility to Behçet's disease. *Chibret Int J Ophthalmol* 9 : 10—24, 1992.
- 6) Mizuki N, Inoko H, Ando H, Nakamura S, Kashiwase K, Akaza T, et al : Behçet's disease associated with one of the HLA-B51 subantigens, HLA-B*5101. *Am J Ophthalmol* 116 : 406—409, 1993.
- 7) Mizuki N, Inoko H, Ishihara M, Ando H, Nakamura S, Nishio M, et al : A complete type

- patient with Behçet's disease associated with HLA-B*5102. *Acta Ophthalmol* 72 : 757—758, 1994.
- 8) Fulton RJ, McDade RL, Smith PL, Kienker LJ, Kettman JR Jr : Advanced multiplexed analysis with the FlowMetrix system. *Clin Chem* 43 : 1749—1756, 1997.
 - 9) 吉川枝里, 宮原詞子, 成瀬妙子, 島田和典, 東 史啓, 原 啓高, 他 : PCR-Luminex 法を用いた, HLA-A, HLA-B および HLA-DRB1 遺伝子の日本人対応 4 桁 DNA タイピング方法の検討. *MHC* 10 : 21—23, 2003.
 - 10) Dunbar SA, Vander Zee CA, Oliver KG, Karem KL, Jacobson JW : Quantitative, multiplexed detection of bacterial pathogens : DNA and protein applications of the Luminex LabMAP system. *J Microbiol Methods* 53 : 245—252, 2003.
 - 11) Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, Azuma F, Itakura M, Kashiwase K, et al : High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics* 57 : 717—729, 2005.
 - 12) Itoh Y, Inoko H, Kulski JK, Sasaki S, Meguro A, Takiyama N, et al : Four-digit allele genotyping of the HLA-A and HLA-B genes in Japanese patients with Behçet's disease by a PCR-SSOP-Luminex method. *Tissue Antigens* 67 : 390—394, 2006.
 - 13) Mizuki N, Inoko H, Mizuki N, Tanaka H, Kera J, Tsuji K, et al : Human leukocyte antigen serologic and DNA typing of Behçet's disease and its primary association with B51. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33 : 3332—3340, 1992.
 - 14) Pugliese A, Bugawan T, Moromisato R, Awdeh ZL, Alper CA, Jackson RA, et al : Two subsets of HLA-DQA1 alleles mark phenotypic variation in levels of insulin autoantibodies in first degree relatives at risk for insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 93 : 2447—2452, 1994.
 - 15) Wooley PH, Panayi GS, Batchelor JR : Lymphocytotoxins in rheumatoid arthritis : prevalence, lymphocyte specificity, and HLA-DR antigens. *Ann Rheum Dis* 40 : 154—156, 1981.
 - 16) Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojobori T : Estimation of allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci. In : Tsuji K, et al (Eds) : HLA 1991. *Proceedings of the 11th International Histocompatibility Workshop and Conference, vol 1.* Oxford University Press, Oxford, 76—79, 1991.
 - 17) Hashimoto M, Kinoshita T, Yamasaki M, Tanaka H, Imanishi T, Ihara H, et al : Gene frequencies and haplotypic associations within the HLA region in 916 unrelated Japanese individuals. *Tissue Antigens* 44 : 166—173, 1994.
 - 18) Tanaka H, Akaza T, Juji T : Report of the Japanese Central Bone Marrow Data Center. *Clin Transpl* : 139—144, 1996.
 - 19) Tokunaga K, Ishikawa Y, Ogawa A, Wang H,

Mitsunaga S, Moriyama S, et al : Sequence-based association analysis of HLA class I and II alleles in Japanese supports conservation of common haplotypes. *Immunogenetics* 46 : 199—205, 1997.

20) **Mizuki N, Ohno S, Ando H, Chen G, Palimeris GD, Stavropoulos-Ghiokas E, et al** : A strong association between HLA-B*5101 and Behcet's disease in Greek patients. *Tissue Antigens* 50 : 57—60, 1997.
