

疾患感受性遺伝子の探求—びまん性汎細気管支炎からサルコイドーシスまで

慶長直人

【要旨】

サルコイドーシスには、病型や発症頻度に明らかな人種差があり、古くからヒト白血球抗原であるHLAとの関連が報告されてきた。近年のヒトゲノム計画の進行に伴い、疾患感受性遺伝子の研究は新しい局面を迎えつつある。新たに研究を始める研究者、知識を深めたい臨床家へ向けて、HLAとの関連性から真の疾患感受性遺伝子を証明することと、HLA以外の候補遺伝子を検討することのための方法論につき、我々の経験を踏まえ、現状を報告したい。

[日サ会誌 2001;21:13-19]

キーワード：サルコイドーシス, HLA, ヒトゲノム計画, 遺伝子変異, インターネット

Identification of Disease Susceptibility Genes: from Diffuse Panbronchiolitis to Sarcoidosis

Naoto Keicho

【ABSTRACT】

Evidence of racial variation and familial clustering suggests genetic predisposition to sarcoidosis. Many researchers have reported involvement of human leukocyte antigens in genetic susceptibility to sarcoidosis. Recent progress in human genome project has provided us new tools for studies of disease susceptibility genes. The aim of this review is to update researchers and clinicians regarding current strategy for identification of HLA-related susceptibility genes and screening of non-HLA candidate genes for sarcoidosis.

[JJSOG 2001;2001;21:13-19]

keywords ; Sarcoidosis, Human leukocyte antigen, Human genome project, Genetic variation, Internet

国立国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部
著者連絡先：〒162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1
国立国際医療センター研究所 呼吸器疾患研究部
慶長直人
TEL: 03-3202-7181
FAX: 03-3207-1038
E-mail: nkeicho-ky@umin.ac.jp

Department of Respiratory Diseases, Research Institute
International Medical Center of Japan

1. ヒトゲノム計画と疾患感受性遺伝子の探求

特定の遺伝子断片を単離し増幅するクローニング技術、その塩基配列決定といった遺伝子工学の技術は概ね1970年代に確立し、その後の10年はそれらの技術を応用した遺伝子クローニング全盛の時代であった。特定の機能を有するタンパク質分子をコードするメッセンジャーRNAを探すと、すなわちcDNAクローニングにより、目的とする遺伝子の塩基配列が次々に決定され、現在サルコイドーシスの分子病態を語る時に頭を悩ます多くのサイトカイン、接着分子などが、この時期に初めて我々の前に実体を現わすことになった^{1,2)}。

しかしながら、このように特定の機能から出発し、該当する遺伝子のクローニングを行うだけでは、サルコイドーシスの病因、病態の進展に関わるすべての遺伝子を拾いあげることが不可能ではないだろうか。言い換えれば、まだ実体が明らかにされていない重要な分子が脚光を浴びることなく埋もれているのではという不安を、誰しも多かれ少なかれ抱くのではないだろうか。

ヒトゲノム約32億塩基対の中には、すべて必要な遺伝子が組み込まれているのであるから、その配列を端から端まで決めてしまい、3万個以上といわれるヒト遺伝子を同定し、その局在や機能を決定すれば新しい道が開けるのではないか。このような発想は、さまざまな疾患を対象とする医学者にとっても、また普遍的な生命現象を解き明かしたいと考える生物学者においても、共通した欲求となり、ついにヒトゲノム計画として集約され、1990年代初めに日本を含む国際協力チームにより、ヒト全ゲノム構造の決定をめざす大規模国際プロジェクトが開始された。このプロジェクトは1995年頃より加速され、2000年にはヒトゲノム上の解読可能な90%以上の領域の塩基配列が、完全ではないものの読みとられ、ヒトの全ゲノム構造の概要（ドラフト）が公開され³⁾、すでに1万5千個以上の遺伝子に関する情報がインターネットを通じて自由に閲覧できるようになっている（Table 1）。

Table 1 Sources of publicly available sequence data (http://www.nhgri.nih.gov/genome_hub.html)

- <http://genome.cse.ucsc.edu/>
(University of California at Santa Cruz)
- <http://www.ensembl.org/>
(European Bioinformatics Institute/ Sanger Center)
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human/>
(National Center for Biotechnology Information)
- <http://compbio.ornl.gov/channel/index.html>
(Oak Ridge National Laboratory)
- <http://hgrep.ims.u-tokyo.ac.jp/>
(RIKEN/University of Tokyo)

このような流れの中で、単一遺伝子病ではない多くの疾患では、これまで漠然と疾患にかかりやすい素因などと言われてきたものが、複数の遺伝子の軽微な違い（多型）の組み合わせによって説明され、それらの疾患は遺伝要因と環境要因、外的要因の絡み合いによって発症する多因子疾患であることが強調されるようになってきた。

サルコイドーシスでは、以前より、CaucasiansよりAfrican-Americansの症例は重症化しやすいこと、日本人症例には結節性紅斑が少ないことなど、病型や発症頻度に明らかな人種差があり、家族集積性があることがよく知られていた⁴⁾。厳密に言えば、環境要因、外的要因が人種や家族内で共有されやすいことによる可能性を否定しきれないが、人種差と家族集積性という二つの点は、サルコイドーシスに遺伝要因が関与することを強く推測させる根拠となっている⁵⁾ (Mendelian Inheritance in Man; MIM番号181000)。

サルコイドーシスの遺伝要因としては、従来よりHLAが注目されてきたが、この点は、我々の主要研究プロジェクトのひとつである、びまん性汎細気管支炎の疾患感受性遺伝子探求と共通のものがある (MIM番号604809)。本稿では、その研究経験から、疾患感受性遺伝子研究の全体像を俯瞰し、サルコイドーシスにおける現状と今後について考えてみたい。

2. ヒトゲノム構造の概要

ヒトゲノム構造は、ひとことで言えば、大多数の意味合いの不明なDNA配列の中に、遺伝子のエクソン (RNAに転写される部分) が島状に分布している状態である。全ゲノム上で、遺伝子をコードしていない領域の約半分は、100 bpから10 kb程度の長さの特定のDNA配列パターン (short or long interspersed nuclear element 分散型エレメントと呼ばれる) によって構成されている (Table 2)。これらのエレメントの多くは、昔、転写された特定のRNAが逆転写機構によりゲノム上のあちこちに再挿入されて、コピー数を増やしていったものと推測されている。このように非常に似通ったエレメントがあちこちに散らばって存在することは、ヒトのゲノムを部分ごとに解読し、つなぎ合わせて、長いひとつながりの配列に再構成する際に、どうしても埋められないすき間やつなぎ合わせの間違いが生じる原因となる。現在のヒトゲノム地図上には、このような不完全さが数多く残っているため、暫定的にドラフト配列と呼ばれている。ヒトがこのようなゲノム構造をとっていることは、PCR法を用いて疾患遺伝子座の変異解析を行う際に非特異的増幅を生じるなど、厄介な問題を引き起こす原因となる。ただ、既知の分散型エレメントがどこに存在するかは、今では、コンピュータ解析により、インターネット上で容易に検索することができる⁶⁾。

Table 2 Number of copies for major classes of interspersed repeat in the human genome

SINE (short interspersed nuclear element)

- Alu (~1,000,000 copies)
- MIR (~400,000 copies)

LINE (long interspersed nuclear element)

- LINE1 (~500,000 copies)
- LINE2 (~300,000 copies)

LTR element

- ERV-class I (~100,000 copies)
- MaLR (~250,000 copies)

DNA element

- MER1-Charlie (~200,000 copies)

(Only major subclasses of transposable elements are listed. Data extracted from a RepeatMasker analysis of the draft genome sequence.)

3. ヒトの疾患感受性に関わる遺伝子変異

ヒトゲノム構造を見ていると、そのDNA配列はひとりひとり微妙に違うことがわかる。それらの多くは、ヒトが快適に生活する上で全く支障のないものであるが、時にそれら変異の場所と性質により、特定の遺伝子の機能発現に決定的なダメージをもたらす、遺伝性疾患の原因となる。しかし、もっとふつうに見られる生活習慣病などの疾患は、発症の危険性が2倍に上がるという程度の、弱い影響しか与えないいくつかのDNAの変異が組み合わさって、その他の要因（たとえばストレスなど）と相俟って発症に至る多因子疾患であると考えられている。このような多因子疾患の遺伝的側面は、従来、体質などと言われているものに近い。

疾患の発症に影響を与えると推測される小規模なDNAの変異には、遺伝子コード領域の非同義置換、遺伝子発現制御領域に見られる一塩基置換と、遺伝子のイントロン部分などにみられる塩基の挿入・欠失などが代表的なものである。すなわち、それら変異は以下のように分類される。

○塩基置換 (base substitutions)

遺伝子コード領域においては、

同義 (synonymous) 置換 (翻訳される場合、アミノ酸配列を変えない)

非同義 (nonsynonymous) 置換 (アミノ酸配列を変える)

ナンセンス変異 (終止コドンに変える)

ミスセンス変異 (異なるアミノ酸に変える)

保存的 (conservative) 置換 (元のアミノ酸と性質が似ている)

非保存的 (nonconservative) 置換 (元のアミノ酸と性質がちがう)

○挿入／欠失 (deletions/insertions)

1 から数塩基の挿入、欠失

マイクロサテライトマーカールなど繰り返し配列における繰り返し数の変化

分散型エレメントなどの比較的大きな挿入、欠失

これまでサルコイドーシスの疾患感受性遺伝子の候補として解析されてきたHLA遺伝子は、遺伝子コード領域内にくつもの非同義置換が組み合わさった結果、その遺伝子産物を大まかに血清学的抗原性により区別することができる。一方、サルコイドーシスで有名なACEのI/D多型は、分散型エレメントであるAlu配列の挿入／欠失多型である。また、最近、結核で報告されて話題を呼び、サルコイドーシスでも検討されているヒトのNRAMP1 遺伝子の多型の一部は、(GT)_nのマイクロサテライトマーカールである。そのほか、たとえば、TNFβ のイントロン部のNcoI多型のようにRFLP (restriction fragment length polymorphism) 法で検出される多型は、ほとんどの場合、単一塩基の変異 (single nucleotide polymorphism; SNP) を見ている (Figure 1)。

SNP (single nucleotide polymorphism)

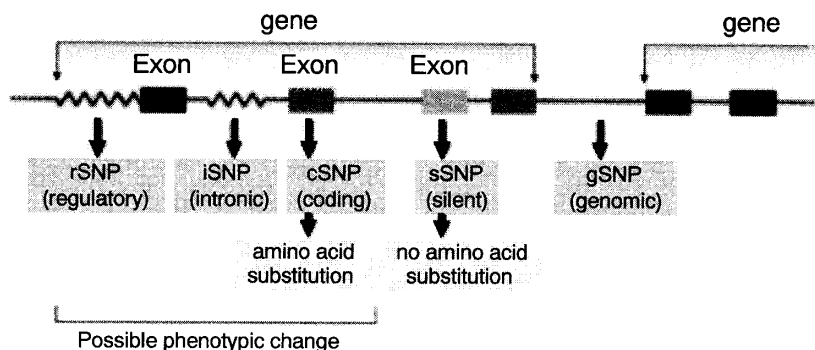


Figure 1 single nucleotide polymorphisms
SNPs altering amino acid sequence or regulating gene expression may cause phenotypic change.

4. 候補遺伝子アプローチ

多因子疾患において、ある候補遺伝子が疾患と関連があるかどうかには、その遺伝子座に存在する変異の保有頻度を、健常群と疾患群でカイ二乗検定を用いて比較する関連分析の手法 (association studies) がよく用いられている。この方法について最も初歩的な問題点は、本来あってはならないが、遺伝子型のミスタイピングに関することである。一般に、実験手法や研究者に問題があればあるほど、無視できない数のミスタイピングが見過ごされ、皮肉なことに、見かけ上の偏り (=有意差) を生じる結果となる。結果が疑わしい場合、異なるタイピング法で再確認するなどの慎重さが望まれる⁷⁾。

サルコイドーシスの感受性に関わる遺伝子の候補を選択する際に、これまでは「自己免疫疾患などですでに検討された遺伝子の特定の変異がサルコイドーシスと関連しているかどうか?」というような、文献ベースのアプローチが取られることが多かった。しかし、これではせっかく自らのアイデアで魅力的な候補遺伝子を選び出しても、その遺伝子が他の疾患で解析され、報告されるまで待たねばならないことになる。現在、ヒトゲノムの構造とそのゲノム上の遺伝子の分布が、ドラフトの形とはいえ、インターネットを通じて公開されたことにより、既知の遺伝子のエクソンイントロン構造は、データベース上からダウンロードすることができる⁸⁾。したがって、入手した塩基配列を見ながら、自らエクソン部やプロモーター部分にPCRプライマーをデザインして、適当な方法で変異の有無をスクリーニングし、最終的に直接シーケンス法で変異の位置を決定すれば、未知の変異を同定し解析することができる。さらに最近では、頻度の高い変異は、データベース上で検索すれば済む場合が多くなってきた。特に東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターのSNP データベースは、日本人集団における単一塩基置換とその候補が、各遺伝子のエクソン、プロモーター領域を中心に登録され、現在も更新中である⁹⁾ (第6回公開時で77,000個、目標150,000個)。また、前出のドラフト配列のデータベース上でも既知のSNPの位置が登録されており、ネット上で、候補とする遺伝子の多くのSNPsの位置情報が得られるようになっている。

サルコイドーシスの感受性に関わる遺伝子を同定しようとする場合、リンパ球、マクロファージを中心とした免疫応答に関わる遺伝子が第一に候補になると思われる。HLAは前述のように、サルコイドーシスの感受性に関わる古典的な候補遺伝子として、初めはその遺伝子産物であるHLA分子の抗原性を指標に検討され、現在では、HLA-class I (A, B, C), class II (DP, DQ, DR), それぞれ遺伝子型タイピングにより詳細な検討が可能になっている⁴⁾。古くからヨー

ロッパ系集団では、自己免疫疾患と同様、血清学的にHLA-A1, B8, DR3 (ハプロタイプを組む、すなわち3つとも同一染色体上にある、ことが多い) がサルコイドーシス患者に比較的高頻度に見られることが報告されてきた。一方、日本ではDR52抗原あるいはDR5, 6, 8との関連性が何度か報告されてきた^{4, 10)}。DR52の抗原性はDRB3遺伝子によりコードされており、ヨーロッパ系集団で関連性のあるDR3も含めて、DR3, 5, 6, 8の抗原性はDRB1遺伝子によりコードされている。サルコイドーシスの発症にDR3, 5, 6, 8が重要か、DR3, 5, 6と連鎖不平衡の関係にあるDR52が重要かについては、石原らが対立遺伝子レベルで検討を行い、DRB1遺伝子のコードする11番目のセリン残基がDR3, 5, 6, 8に共通していて、shared epitopeとして重要なアミノ酸であるという仮説を提唱している¹¹⁾。HLA各遺伝子と臓器選択性、予後との関係については、特に臨床上重要であるため、今後さらに、分子病態を含めた検討が望まれる^{12, 13)}。

HLA関連遺伝子以外では、細胞性免疫に関わる分子、細胞内寄生細菌の排除に関係する分子などが候補遺伝子に選ばれているが、人種を越えて著しく有意なものはまだ見いだされていない¹⁴⁻²⁴⁾。(Table 3)

5. 全ゲノムアプローチと位置情報に基づく候補遺伝子アプローチ

前項のような候補遺伝子アプローチでは、自由に研究者のアイデアに任せて、疾患に関連のありそうな遺伝子の解析はできるのだが、未知の遺伝子は解析できないこと、本当は重要な遺伝子でも、あまり注目されていないと、いつまでもたっても解析されないという問題があり、もっと網羅的、体系的なアプローチも必要と思われる。このような場合、メンデル式遺伝性疾患であれば家系をもとにして連鎖解析を行うのが標準的方法であるが、多因子疾患では、多くの場合、連鎖解析は困難であり、代わりに全ゲノムスキャンによる関連分析が試みられつつある。これは、ヒトゲノム計画により明らかにされた、全染色体上に分布する無数の遺伝マーカー (SNPあるいはマイクロサテライト) を用いて関連分析を行い、それらの中できわめて疾患と関連性の強いマーカー (群) を選びだそうという試みである。解析するマーカーの数が多いため、それらのマーカーの中には、当然、偶然に有意差を持つものも多く拾われてくると予想されるが、疾患と直接関係があるか、疾患感受性遺伝子の変異と連鎖不平衡にある (疾患感受性遺伝子座と近い距離にあり、あまり組み換えが起こっていない) ものも拾われてくるので、そのマーカーの位置情報から真の疾患感受性遺伝子を決定できるかもしれないと期待される。

位置情報に基づく候補遺伝子アプローチは、このように、ある遺伝マーカーが疾患と統計学的に有意な関連を持った場合、その周辺の機能遺伝子を解析して、真の疾患感受性遺伝子とその疾患発症に関わる変異を同定しようとする方法である。HLA 遺伝子領域についても、疾患によっては、HLA 遺伝子自体は単なる遺伝マーカーに過ぎず、周辺の遺伝子が真の疾患感受性遺伝子である可能性が検討されている。特に1999年、四つのグループの共同作業により、HLA 領域の塩基配列が完全に決定され²⁵⁾、HLA 関連の遺伝子群が物理地図上に正確に配置され、今まで知られていなかった遺伝子が次々とクローニングされるようになり、多くの HLA 関連疾患で、この傾向にますます拍車がかかっている。我々が検討を進めてきたびまん性汎細気管支炎では、

日本ではHLA-B54、韓国では一般集団にHLA-B54が存在するにもかかわらずHLA-A11 と強い関連があることから、HLA 遺伝子自体ではなく、HLA-A, B 両遺伝子座の間に疾患感受性遺伝子があるのではないかと推測された。我々は14種類の遺伝マーカーを利用した解析を行い、その感受性遺伝子の候補領域をHLA-C遺伝子座近傍の200 kbの範囲に絞り込んだ²⁶⁾。サルコイドーシスにおいては、その病態におけるT細胞免疫応答の重要性からHLA自体が疾患感受性遺伝子のひとつである可能性は高いものの、HLA 遺伝子座周辺のTNF, TAP, LMP, MICなどといった免疫、炎症に係わる多くの遺伝子を候補遺伝子としたアプローチが進められている²⁷⁾ (Figure 2)。

Table 3 Association studies in Sarcoidosis—Medline Search for three keywords "sarcoidosis", "gene" and "polymorphism". Not all articles are listed.

gene	Variations			tested population	Associations in sarcoidosis			Ref. no.	Diseases studied previously
	location	type	functional change		subjects (number)	odds ratio (95% CI)	p value		
CCR5	terminal exon	deletion (Δ 32)	functional loss	Czech	Sarc(66) : Ctrl(386) treated Sarc(46) : Ctrl(386)	1.9 (1.1-3.2) 2.9 (1.3-4.5)	<0.05 <0.01	14)	AIDS
CCR2	the first coding exon	cSNP (V64I)	unknown	Japanese	Sarc(100):Ctrl(122)	0.37 (0.21-0.67)	<0.001	15)	AIDS
ACE	intron 16	insertion /deletion (Alu sequence)	influence on serum levels	Japanese	female Sarc(70):Ctrl(162)	2.2 (1.2-4.0)	=0.01	16)	myocardial infarction
				Italians	Sarc(61):Ctrl(80)	no association		17)	
				Japanese	Sarc(207):Ctrl(314)	no association		18)	
				African Americans	Sarc(183):Ctrl(111)	3.2 (1.5-6.7)	=0.005	19)	
				Caucasians	Sarc(60):Ctrl(48)	no association			
				Finnish	Sarc(59):Ctrl(70) prolonged Sarc(26) : others(33)	no association positive association	<0.05	20)	
TNF alpha	promoter	rSNP(G/A)	influence on transcription levels	Japanese	Sarc(110):Ctrl(161)	no association		21)	cerebral malaria etc.
TNF beta	intron 1	iSNP (NcoI RFLP)	influence on transcription levels		prolonged Sarc : others	-	<0.05		
Vitamine D receptor	intron 8	iSNP (BsmI RFLP)	influence on bone mineral density	Japanese	Sarc(101):Ctrl(105)	positive association	<0.05	22)	osteoporosis hyperparathyroidism
NRAMP1	promoter	(GT)n repeat	unknown	African Americans	Sarc(157):Ctrl(111)	0.48 (0.28-0.81)	<0.02	23)	tuberculosis
TAP2	exon 9	cSNP (A565T)	possible influence on peptide transport	UK	Sarc(117):Ctrl(290)	0.4 (0.18-0.85)	<0.01	24)	HLA-related diseases
	exon 5	cSNP (V379I)		Caucasoid Polish Slavonic	Sarc(87):Ctrl(158)	0.17 (0.02-1.0)	=0.02		

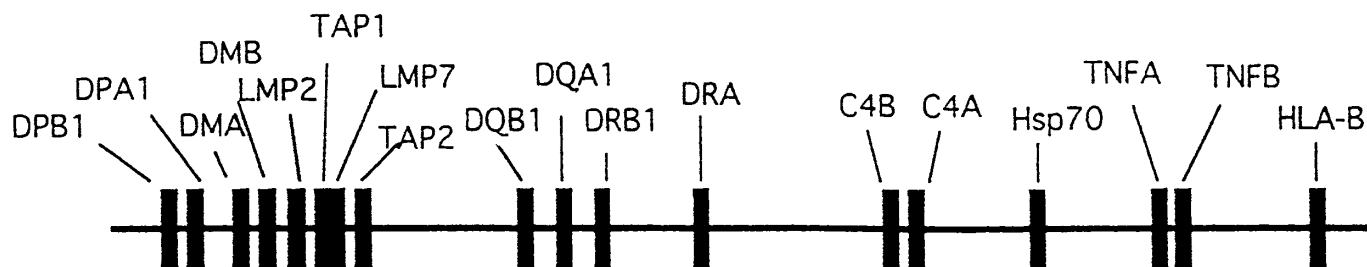


Figure 2 Major candidate genes in the HLA region.

6. 倫理的側面

最後に、今後、このような遺伝子解析を実施ないし協力する場合の倫理問題に関する日本の現状にふれることとする。平成13年4月より、文部科学省、厚生労働省、経済産業省の三省合同の「ヒトゲノム 遺伝子解析研究に関する倫理指針」が施行され、これらの研究に係わる「すべての関係者において、この指針を遵守する」ことが求められ²⁸⁾、それ以前に、厚生省、文部省、科学技術庁などで策定していた独自の基準は廃止され、本指針に一本化された²⁹⁾。

この、いわゆる三省合同指針は、「その主たるものとして、いわゆる生殖細胞系列変異又は多型を解析する研究」を対象として、「本指針施行前に既に着手され、現在実施中のヒトゲノム 遺伝子解析研究に対しては適用しない」が、海外との共同研究の際にも「原則として本指針の基準に従って研究を実施」しなければならないと定められている。「試料等の提供が行われる機関が小規模であること等により、倫理審査委員会の設定が困難である場合」を除いて、研究機関（試料等の提供が行われる機関を含む）は「少なくとも複数名」の外部委員を含む倫理審査委員会を設置しなければならないこと、「共同研究の場合には、研究計画についてそれぞれの研究機関において設置された倫理審査委員会の承認を得ることが原則」とされている。また、インフォームド コンセントは「本指針においては、文書によること」が求められている。したがって、新たにサルコイドーシスの遺伝子多型解析に着手しようとする研究者や協力を求められた臨床医は、必ずこの指針を一読し、しかるべき手続きを踏むことが要求される。この指針は実情に応じて、随時改訂されていくものと思われるので、今後の動向にも注意を払う必要がある。

7. おわりに

サルコイドーシスの発症、病型、予後に関わる遺伝要因の探索は、古くて新しい話題である。米国NHLBIでは、最近、ACCESS (A Case Control Etiologic Study of Sarcoidosis) という名の大規模多施設研究を展開している。日本の臨床医、研究者はサルコイドーシスの遺伝要因と環境、外的要因の解明に熱心であるため、今後、新たなゲノム疫学的方法論による国際的な共同研究を通じて、世界のサルコイドーシスにアプローチしていく体制が整うことを希望している。

引用文献

- 1) Newman LS, Rose CS, Maier LA. Sarcoidosis. *N Engl J Med* 1997;336: 1224-1234.
- 2) Hunninghake GW, Costabel U, Ando M et al: ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1999;16: 149-173.
- 3) International Human Genome Sequencing Consortium: Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409: 860-921.
- 4) Luisetti M, Beretta A, Casali L: Genetic aspects in sarcoidosis. *Eur Respir J* 2000;16: 768-780.
- 5) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/entrez/dispomim.cgi?id=181000>
- 6) <http://repeatmasker.genome.washington.edu/>
- 7) Keicho N, Emi M, Kajita M et al: Overestimated frequency of a possible emphysema-susceptibility allele when microsomal epoxide hydrolase is genotyped by the conventional polymerase chain reaction-based method. *J Hum Genet* 2001;46:96-98.
- 8) http://www.nhgri.nih.gov/genome_hub.html
- 9) <http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>
- 10) 山口悦郎, 川上義和 日本人サルコイドーシス症のHLA抗原解析 *日本臨牀* 1994; 52: 1443-1566.
- 11) Ishihara M, Ishida T, Inoko H et al: HLA serological and class II genotyping in sarcoidosis patients in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 1996; 40: 86-94.
- 12) 立花暉夫, 大森文夫 サルコイドーシス心病変の臨床的研究. 厚生省びまん性肺疾患調査研究班1995年度研究報告書 1996: 184-186.
- 13) Naruse TK, Matsuzawa Y, Ota M et al: HLA-DQB1*0601 is primarily associated with the susceptibility to cardiac sarcoidosis. *Tissue Antigens* 2000; 56: 52-57.
- 14) Petrek M, Drabek J, Kolek V et al: CC chemokine receptor gene polymorphisms in Czech patients with pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1000-1003.
- 15) Hizawa N, Yamaguchi E, Furuya K et al: The role of the C-C chemokine receptor 2 gene polymorphism V64I (CCR2-64I) in sarcoidosis in a Japanese population. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 2021-2023.
- 16) Furuya K, Yamaguchi E, Itoh A et al: Deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme (ACE) gene as a genetic risk factor for sarcoidosis. *Thorax* 1996; 51: 777-780.
- 17) Arbustini E, Grasso M, Leo G et al: Polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 851-854.
- 18) Tomita H, Ina Y, Sugiura Y et al: Polymorphism in the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene and sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 255-259.
- 19) Maliarik MJ, Rybicki BA, Malvitz E et al: Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and risk of sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1566-1570.
- 20) Pietinalho A, Furuya K, Yamaguchi E et al: The angiotensin-converting enzyme DD gene is associated with poor prognosis in Finnish sarcoidosis patients. *Eur Respir J* 1999; 13: 723-726.
- 21) Yamaguchi E, Itoh A, Hizawa N et al: The gene polymorphism of tumor necrosis factor-beta, but not that of tumor necrosis factor-alpha, is associated with the prognosis of sarcoidosis. *Chest* 2001; 119: 753-761.
- 22) Niimi T, Tomita H, Sato S et al: Vitamin D receptor gene polymorphism in patients with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1107-1109.
- 23) Maliarik MJ, Chen KM, Sheffer RG et al: The natural resistance-associated macrophage protein gene in African Americans with sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22: 672-675.
- 24) Foley PJ, Lympany PA, Puscinska E et al: Analysis of MHC encoded antigen-processing genes TAP1 and TAP2 polymorphisms in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1009-1014.
- 25) Aguado B, Beck S, Geraghty D, et al.: The MHC sequencing consortium: Complete structure and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 1999; 401: 921-923.
- 26) Keicho N, Ohashi J, Tamiya G et al: Fine localization of a major disease-susceptibility locus for diffuse panbronchiolitis. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 501-507.
- 27) Ishihara M, Ohno S. Genetic influences on sarcoidosis. *Eye* 1997; 11: 155-161.
- 28) <http://www.mhlw.go.jp/houdou/0103/h0329-3.html>
- 29) Triendl R Japan seeks to unify ethics rules on genomics research. *Nature* 2000; 406: 665,