唇・顎・口蓋裂の遺伝学的研究 第2報 HLA を指標とした免疫遺伝学的解析

石井正俊

Genetic study on cleft lip and/or cleft palate

2. Immunogenetic study by making use of HLA

Masatoshi ISHII

Abstract: 152 patients with cleft lip and/or cleft palate (CL/CP) who visited the clinic of Second Department of Oral and Maxillo-facial Surgery, Tokyo Medical and Dental University Hospital were typed for HLA A,B, & C. The results of this population studies were as follows.

① There were no antigens which showed the statistically significant association neither in male nor female patients with cleft lip alone (CL). ② Aw 33 was significantly low only in the male patients with cleft lip and palate (CLP). ③ Aw 24 and Bw 52 were significantly high only in the male patients with cleft palate alone (CP). These results suggested that the HLA-linked susceptibility or resistant genes for CP or CLP respectively exist and that these types of clefts were different in forms of the involvement of HLA-linked genetic factors. The difference in the association of cleft with HLA between male and female might be explained by the multifactorial character of disease.

Key words: cleft lip and palate (唇顎口蓋裂), HLA (HLA), genetic study (遺伝学的研究)

緒 言

唇・顎・口蓋裂（以下 CL/CP）の遺伝様式については今なお定説はない。主働遺伝子の存在を疑わせるものとして、Moore ら（1987）¹⁾ は分子生物学的手法を用いて、X染色体と口蓋裂遺伝子との連鎖を疑わせる家系について報告している。しかしながら、近年における統計遺伝学的研究により、現在ではポリジーンと環境要因が互いに関与して起こる多因子遺伝説が有力であり^{2~11)}、著者も第1報において報告したところである¹²⁾。多因子遺伝における因子のうち、コーチゾン、フェニトイン、アスピリンなどの各種薬剤、ビタミンA、B₆、X線照射、酸素欠乏などの環境要因に関する報告は多いが、遺伝的要因に関する報告は比較的少ない。その中で、近年、免疫遺伝学的な方面から遺伝マーカーの検索が行わ

れてきている。その基礎となる研究は近交系のマウスを用いて古くから行われている。まず、Fraser ら（1951）¹³⁾ は Inbred Strain マウスを用いて、種によるコーチゾン誘発性（CP）の頻度に違いがあると報告した。次いで Congenic Strain マウスを用いて、その感受性の決定因子としてマウスの主要組織適合抗原複合体である H-2 複合体が関与しているとの報告^{14~19)}が多数行われた。さらにその証拠として、コーチゾン誘発性 CP の感受性の高い種の方が抵抗性の高い種よりもその口蓋部により高濃度のコーチゾンレセプターを有し、そのレセプターの濃度は H-2 により影響を受けると報告されている^{20~22)}。これらの報告は CL/CP の病因としてヒトの主要組織適合抗原複合体である HLA と連鎖した遺伝要因の存在の可能性を示唆するものである。HLA はこれまでに数多くの疾患との相関が発見されており、その原因究明に役立っている^{23,24)}。CL/CP と HLA との相関については海外では数例の報告^{25~31)}を認めるが、わが国では Watanabe（1984）³²⁾ が報告しているにすぎない。

以上、本疾患のように多因子遺伝が疑われる疾患において、その遺伝因子のひとつとして HLA の検索を行うことは意義のあることと思われる。本研究では、当科を訪れた CL/CP 患者をもとに、本疾患と HLA との相

東京医科歯科大学歯学部第2口腔外科学教室
(主任：榎本昭二教授)

The Second Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University (Chief: Prof. Shoji Enomoto)

受付日：平成3年1月7日

表 1 HLA を検索した対象患者

裂 型	男 性	女 性	合 計
CL	23	19	42
CLP	44	28	72
CP	17	21	38
合 計	84	68	152

関を研究した。HLA はその class I 抗原である、A、B、Cについて検討し、対象となる患者群は口唇裂（以下 CL）、唇顎口蓋裂（以下 CLP）、口蓋裂（以下 CP）の3型に分類し、それぞれについて HLA との関連を検索した。さらに男女別の検索も行っており、多因子遺伝説との関連において考察を加えて述べていくものとする。

材 料 と 方 法

1. 研究対象

統計学的分析に用いた患者のなかから、CL 42名（男性23名、女性19名）、CLP 72名（男性44名、女性28名）、CP 38名（男性17名、女性21名）を対象とした（表1）。対象患者はすべて日本人で、たがいに血族関係にないものを用い、また、Down 症候群などのような染色体異常症群の部分症状として唇・顎・口蓋裂が現われた患者、さらに粘膜下口蓋裂、先天性鼻咽腔閉鎖不全症候群は対象から除外した。

2. HLA タイピング

HLA-A、B、C タイピングは、Terasaki らにより開発された NIH microdroplet lymphocytotoxicity test により行った^{33,34)}。

使用した抗血清は第8回国際主要組織適合性ワークショップにて配布されたもの、および東京医科歯科大学難治疾患研究所人類遺伝学部門、九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門で経産婦血清のスクリーニングにより得られたものを使用した。また一部の血清はベリタス社より購入したものを用いた。

全リンパ球分離およびタイピングの具体的な手技を以下に示す。

a. 全リンパ球分離法³⁵⁾

末梢血 10~20 ml を無菌的に血液 10 ml あたりヘパリン 500 単位となるように加えて採血した。これを等量の PBS (Phosphate buffer saline) で希釈し、3、4 回混和した希釈した末梢血を Ficoll-Conray 液（比重 1.077 ± 0.001）15 ml に静かに重層し、400 g で 35 分遠心した。Ficoll-Conray 液と希釈された血漿の境界面に浮遊するリンパ球層をパスツールピペットで採取し、ハンクス液 15 ml で洗浄した。細胞沈渣を 20% FCS (Fetal calf serum) 加 RPM-1640（ニッスイ）に浮遊し、細胞数お

表 2 検索を行った HLA 抗原

A locus	B locus		C locus
A1	B 51(5)	B 27	C w 1
A2	B w 52(5)	B 35	C w 2
A3	B 7	B 37	C w 3
A11	B 8	B w 60(40)	C w 4
A23(9)	B 44(12)	B w 61(40)	C w 6
A24(9)	B 45(12)	B 41	C w 7
A25(10)	B 13	B 42	
A26(10)	B 14	B w 46	
A28	B w 62(15)	B w 47	
A29(w 19)	B w 63(15)	B w 48	
A30(w 19)	B 38(16)	B w 53	
A31(w 19)	B 39(16)	B w 59	
A w 33(w 19)	B 17	B w 67	
A w 34(w 19)	B w 54(w 22)		
	B w 55(w 22)		
	B w 56(w 22)		

よび viability を測定した。

b. 全リンパ球凍結保存

室温で、20% FCS 加 RPMI-1640 でリンパ球浮遊液（6~10 × 10⁶/ml）を作り、氷上で冷却しつつ、等量の 20% DMSO (dimethyl sulfoxide, 同仁薬化学研究所製)・20% FCS 加 RPMI-1640 を 1 滴ずつゆっくりと滴下しながら混和して、リンパ球濃度を 3~5 × 10⁶/ml にした。ただちに、1 ml ずつあらかじめラベリングしておいた freezing tube (Nunc 製 No. 1076 スクリューキャップ付き) に分注し、-80 度下で保存した。

c. リンパ球微量細胞傷害試験

リンパ球と抗 HLA 血清とをインキュベートすると、リンパ球の細胞膜表面上に表現されている HLA 抗原に抗 HLA 抗体が結合し、これに補体を加えると補体系が活性化され、抗体結合部位の細胞膜破壊が起こり細胞は死ぬ。エオジン色素で染色すると死細胞では細胞内にエオジン色素が侵入し位相差倒立顕微鏡下では暗くみえるが、生細胞はエオジン色素が侵入できないため、死細胞に比べて小さく明るく光って見える。この細胞の生死を判定することにより、リンパ球が当該の HLA 抗原を表現しているかどうかを判定した。

具体的な手技を以下に示す。

③新鮮採血細胞を用いた HLA-A、B および C タイピング

分離された全リンパ球を必要量だけ Fisher tube に移し、ハンクス液で 3 回洗浄した後、上清を捨て、再びハンクス液を加えてトリパンブルー染色により生細胞数を測定し、リンパ球を染色し、リンパ球を 2,000~3,000 個/mm³ にハンクス液で調整した。あらかじめ室温に戻

表 3 各裂型と HLA との相関

HLA 抗原	Control (N=100 に換算)	CL (%) (N=42 ※N=38)	CLP (%) (N=72 ※N=58)	CP (%) (N=38 ※N=23)	合 計 (N=152 ※N=119)
A2	41.0	50.0	48.6	39.5	46.7
A3	1.6	2.4	1.4	0	1.3
A11	18.2	16.7	16.7	23.7	18.4
A24(9)	59.6	54.8	61.1	73.7	62.5
A26(10)	21.1	28.6	18.1	7.9	18.4
A31(w19)	16.9	11.9	12.5	13.2	12.5
A w33(w19)	16.2	7.1	6.9	15.8	9.2
B7	11.2	7.1	13.9	0	8.6
B13	3.5	4.8	2.8	2.6	3.3
B35	17.8	21.4	18.1	18.4	19.1
B39(16)	7.3	11.9	4.2	7.9	7.2
B44(12)	12.7	9.5	8.3	15.8	10.5
B w46	8.5	4.8	9.7	2.6	6.6
B w48	4.5	0	4.2	5.3	3.3
B51(5)	17.1	16.7	18.1	7.9	15.1
B w52(5)	23.2	21.4	12.5	36.8	21.1
B w54(w22)	14.5	14.3	5.6	5.3	7.9
B w55(w22)	6.7	2.4	8.3	5.3	5.9
B w59	4.2	4.8	2.8	5.3	3.9
B w60(40)	13.3	7.1	8.3	15.8	9.9
B w61(40)	17.9	21.4	9.7	13.2	16.4
B w62(15)	20.9	16.7	15.3	5.3	13.2
C w1	27.4	21.4	30.6	36.8	29.6
C w3	46.0	42.9	48.6	47.4	46.7
C w4	10.8	4.8	13.9	7.9	9.9
C w7	19.3	※18.4	※13.8	※ 8.7	※14.3

しておいた HLA 抗血清の入ったプレートの各 well に、リンパ球溶液をディスペンサー (Hamilton 社製 50 μ l 用 U.S.A.) で 1 μ l ずつ播種した。30 分間室温でインキュベートした後に、家兎補体をディスペンサー (Hamilton 社製 250 μ l 用) で 5 μ l ずつ各 well に播種した。60 分間室温でインキュベートした後に、エオジン Y 水溶液 (Merck 社製) をジェットピペット (York Instruments) で 5 μ l ずつ加えて染色した。3～4 分後ジェットピペットで 37% 中性ホルマリン液 5 μ l を加えて固定し、カバーガラスを静かにかぶせ、4 $^{\circ}$ C で一晩静置し、翌日位相差倒立顕微鏡で観察した。

⑤ Frozen cells による HLA-A, B および C タイピング

-80 $^{\circ}$ C の Frozen cells をただちに 37 $^{\circ}$ C の水浴恒温槽で融解し、ただちに Fisher tube に融解したリンパ球溶液を移した。以後の操作は新鮮採血細胞を用いた場

合同様に行った。

d. 判 定

血清学的に検出される HLA 抗原の判定は、死細胞の全細胞 (生細胞+死細胞) に対する割合から求めた。すなわち死細胞の割合が 0～30% のとき陰性、40～60% のとき偽陽性、70～100% のとき陽性と判定した。なお、検索した抗原の種類は現在承認されている抗原のうち、表 2 に示すように HLA-A 抗原 14 種類、B 抗原 29 種類、C 抗原 6 種類であった。

e. 統計学的分析

統計学的分析は 2 $\times$ 2 分割表による Woolf の方法³⁶⁾と Halden の補正法³⁷⁾を用い関連の検定はカイ 2 乗 (χ^2) 検定による有為差検定を行った。健康対照としては患者の出身地などを考慮し、全国規模の第 8 回日本 HLA ワークショップで解析されたデータを用いた。なお、この健康対照における、A, B, C の検索数はそれぞれ 1,234,

表 4 男女別の裂型と HLA との相関

HLA 抗原	Control (N=100 に換算)	CL(♂)(%) (N=23 ※N=21)	CL(♀)(%) (N=19 ※N=17)	CLP (♂)(%) (N=44 ※N=37)	CLP (♀)(%) (N=28 ※N=21)	CP(♂)(%) (N=17 ※N=13)	CP(♀)(%) (N=21 ※N=10)
A2	41.0	60.9	36.8	50.0	46.4	35.3	42.9
A3	1.6	0	5.3	2.3	0	0	0
A11	18.2	13.0	21.1	18.2	14.3	17.6	28.6
A24(9)	59.6	65.2	42.1	70.5	46.4	88.2*	61.9
A26(10)	21.1	21.7	36.8	22.7	10.7	5.9	9.5
A31(w19)	16.9	4.3	21.1	9.1	17.9	17.6	9.5
A w33(w19)	16.2	8.7	5.3	2.3*	14.3	11.8	19.0
B7	11.2	8.7	5.3	13.6	14.3	0	0
B13	3.5	8.7	0	4.5	0	5.9	0
B35	17.8	21.7	21.1	22.7	10.7	5.9	28.6
B39(16)	7.3	4.3	21.1	2.3	7.1	5.9	9.5
B44(12)	12.7	8.7	10.5	4.5	14.3	17.6	14.3
B w46	8.5	4.3	5.3	13.6	3.6	5.9	0
B w48	4.5	0	0	2.3	7.1	0	9.5
B51(5)	17.1	8.7	26.3	18.2	17.9	11.8	4.8
B w52(5)	23.2	17.4	26.3	11.4	14.3	58.8**	19.0
B w54(w22)	14.5	13.0	15.8	6.8	3.6	0	9.5
B w55(w22)	6.7	4.3	0	9.1	7.1	0	9.5
B w59	4.2	8.7	0	2.3	3.6	0	9.5
B w60(40)	13.3	4.3	10.5	9.1	7.1	23.5	9.5
B w61(40)	17.9	13.0	31.6	6.8	14.3	17.6	9.5
B w62(15)	20.9	17.4	15.8	15.9	14.3	5.9	4.8
C w1	27.4	21.7	21.1	34.1	25.0	17.6	52.4
C w3	46.0	30.4	57.9	50.0	46.4	47.1	47.6
C w4	10.8	4.3	5.3	15.9	10.7	5.8	9.5
C w7	19.3	※19.0	※17.6	※ 5.4	※28.6	※ 0	※20.0

* P<0.05

** P<0.01

1,264, 1,212名であるが、本研究における検索数との差が大きくなるため、人為的有為差が出るのを防ぐため^{38,39)}、実際の統計処理においては、N=100に換算したものを用いた。また2×2分割表において期待値が小さい時、P値を厳しくするためにYatesの補正を行った。相関の強さを表わすためには相対危険度(R.R.)を用いた。相対危険度が1より小さい場合はその逆数に負の符号を付けて表わした。

結 果

検索対象152名の裂型別の成績では、A, B, CすべてのlocusでCL, CLP, CPいずれにおいても有意差を認めた抗原はなかった(表3)。

そこでCL, CLP, CPの3群をそれぞれ男女に分けて有意差検定を行った(表4)。

CLに関しては、男女ともに、A, B, Cすべてのlocusで有意差を示す抗原は認めなかった。

CLPに関しては、Aw33が男性対象患者44名中1名に認められたのみで、健康対照の16.2%に対して2.3%と統計学的にはごくわずかであるが有意に低下していた(P<0.05)。Aw19の他のsplit抗原であるA31はCLP男性で9.1%(4/44)、健康対照では16.9%と有意差は認めなかった。さらに日本人においてAw33と連鎖傾向の強いB44もCLP男性で4.5%(2/44)、健康対照では12.7%と有意差は認められなかったがわずかに低下していた。しかしながら女性患者においては、Aw33, B44ともに14.3%(4/28)と有意差は認められな

表 5 有意差を示す抗原の男女間の比較

	HLA 抗原	Contol	男 性	女 性
CLP	A w 33(w 19)	16.1%	1/44 (2.3%) $\chi^2=4.34^*$ R.R.= -5.71	4/28 (14.3%) $\chi^2=0.00$ R.R.= -1.15
	B 44(12)	12.7%	2/44 (4.5%) $\chi^2=1.42$ R.R.= -2.56	4/28 (14.3%) $\chi^2=0.01$ R.R.= 1.22
CP	A 24(9)	59.6%	15/17 (88.2%) $\chi^2=3.99^*$ R.R.= 4.22	13/21 (61.9%) $\chi^2=0.00$ R.R.= 1.08
	B w 52(5)	23.2%	10/17 (58.8%) $\chi^2=7.40^{**}$ R.R.= 4.59	4/21 (19.0%) $\chi^2=0.01$ R.R.= -1.19

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

R.R. (=Relative Risk): 相対危険度

った。

CP に関しては、男性対象患者17名中15名に A 24 が認められ、健康対照の59.6%に対して88.2%とわずかではあるが有意に上昇していた ($P < 0.05$)。さらに日本人において A 24 と連鎖傾向の強い Bw 52 も17名中10名に認められ、健康対照の23.2%に対し58.8%とやはり有意に上昇していた ($P < 0.01$)。B 5 の他の split 抗原である B 51 は CP 男性で11.8% (2/17)、健康対照では17.1%と有意差は認めなかった。また Bw 52 陽性患者はすべて A 24 陽性であった。しかしながら女性患者においては、A 24、Bw 52 はそれぞれ 61.9% (13/21)、19.0% (4/21) と有意差は認められなかった。

以上の解析結果で認められた有意な相関も、各遺伝子座ごとに検索した HLA 抗原の数を P 値に乘ずることにより得られる補正 P 値を用いて検討すると、いずれも有意な相関とは考えられなかった。

考 察

HLA が CL/CP と相関を持っている可能性があるとする根拠として、第 1 にマウスのコーチゾン誘発性 CP とマウスの主要組織適合抗原である H-2 との相関¹³⁻²²⁾ 第 2 にはマウスの尾の奇形に関与する T/t 複合体と H-2 は同一染色体上に存在すること^{42,44,45)}、さらに第 3 にはヒトにおける他の先天奇形とヒト主要組織適合抗原である HLA との相関についての報告^{40,41)}がみられることがあげられる。

マウスの近交系を用いた実験においては、これまでにコーチゾンおよび フェートイン誘発性の口蓋裂と H-2

との相関に関する研究が数多く行われている。まず、Fraser ら (1951)¹³⁾ は Inbred Strain マウスを用いて、種の違いによりコーチゾン誘発性の口蓋裂に対する感受性の違いがあることを報告した。その後、Congenic Strain マウスを用いてその感受性を決定する因子の一つとして H-2 複合体が関与しているとの報告が相次いでみられた¹⁴⁻¹⁹⁾ Bonner ら (1975)¹⁸⁾ は H-2^a のハプロタイプを持つ種に感受性が高く、H-2^b のハプロタイプをもつ種はそれに比べて抵抗性が高いと報告し、次いで Melnick ら (1981)¹⁴⁾ は 3 種類の Congenic Strain マウスを用いた実験で、感受性の高い順に H-2^a、H-2^b、H-2^d の H-2 ハプロタイプをもつと報告した。また Tyan ら (1978)¹⁶⁾ はコーチゾン誘発性の口蓋裂は H-2 のタイプの違いと摂取する食餌の違いにより異なることより、遺伝的要因と環境要因が関与していることを示した。H-2 ハプロタイプがコーチゾン誘発性の口蓋裂の発生に関与していることの証拠として、コーチゾン誘発性の口蓋裂に対する感受性の高い種では口蓋部のコーチゾンレセプターの濃度が高く、それは H-2 と直接連鎖しているタンパクの量により支配されとの報告があった²⁰⁻²²⁾。

また一方、マウスの尾の奇形から胎児死に至るまで広範な表現型を支配する T/t 複合体⁴³⁾は H-2 複合体と同じ染色体上に存在し、互いに作用しあっているという報告がみられている^{42,44,45)}。

これに対して、ヒトにおける CL/CP と HLA に関しては、Bonner ら (1978²⁵⁾、1980²⁶⁾) が白人の CP の男性で先天性心奇形と相関のある A 2⁴⁰⁾ が有意に高く、また白人およびメキシコ系アメリカ人の CLP 患者にお

図1 CLP 発症における男女間でのしきい値の相違

いて有意差はないものの A 24 が高くみられると報告しており、CL/CP の発生率が高い東洋人に高率に存在する A 24 と CLP と関係があるのではないかと考察している。日本人においては Watanabe (1984)³²⁾ らが CL および CP において Cw 7 が有意に高いと報告している。本研究においてはこれらの報告と一致する結果は認められなかった。これに対して、CL/CP と HLA との相関はないとする報告もある²⁷⁻³⁰⁾。

本研究では3タイプそれぞれの全体では相関はみられなかったが、男女別の検索結果では、CLP の男性で Aw 33 が有意に低く ($P < 0.05$)、CP の男性で A 24 および Bw 52 が有意に高かった ($P < 0.05$, $P < 0.01$) (表5)。

本疾患のように男女間で発生率の異なる多因子遺伝疾患とみられる HLA との相関についての研究の1つにリウマチがあげられる。Ohta ら (1982)⁴⁶⁾ は、日本人においてリウマチの男女比は 1 : 4 で女性に多く発生するのに対し、HLA との相関では男性患者の方がより強く現れるが、この事実、発症までのしきい値が高い男性においては、より多くの因子を必要とするわけで HLA もその因子の一つであり、リウマチが多因子遺伝疾患であることと矛盾しないと述べている。また Ollier ら (1984)⁴⁷⁾ は同様の研究で、男性リウマチ患者において特定の HLA ハプロタイプが高いのは男性の高いしきい値を越すための因子として働いていると述べている。

本研究においては、男女間で発生率に差のない CL で

図2 CP 発症における男女間でのしきい値の相違

は有意差を示す抗原は認められなかったが、CLP においては、発生率の高い、すなわちしきい値の低い男性において Aw 33 が有意に低く女性においては有意差を示さなかった。つまり抵抗性に働くと思われる Aw 33 は男性にとってはしきい値を越えないための因子であり、女性ではそれを持っていた、それを上回る数あるいは強さの発現促進因子を持っていなければ発現しないと考えることができる(図1)。CP においては発現率の低い、すなわちしきい値の高い男性において、A 24, Bw 52 が有意に高く、女性においては有意差を示さなかった。このことは HLA と連鎖した遺伝要因が男性において高いしきい値を越すための因子となっていることを示唆する(図2)。

このように本研究の結果では CLP および CP 患者における主遺伝子の存在は確認できなかったが、多因子遺伝の系で考えても矛盾しないものであった。また、CL, CLP, CP の3型で異なる結果が出たことより、同一の遺伝様式をとるとされている CL と CLP とでは HLA と連鎖した遺伝要因の関わり方が異なっていることを示唆するものである。

結 語

当科を受診した CL/CP 患者152名 (CL 42名, CLP 72名, CP 38名) を対象とし、HLA-A, B, C との相関

について男女別の検索を行った。

1. CL, CLP, CP いずれの群においても HLA-A, B, C の中に主遺伝子は認められなかった。
2. CL 群では男女とも有意差を示す抗原は認められなかった。
3. CLP 群では男性においてのみ Aw 33 が有意に低いという結果を得た ($P < 0.05$)。
4. CP 群では男性においてのみ, A 24, Bw 52 が高いという結果を得た (それぞれ $P < 0.05$, $P < 0.01$)。
5. 上記の結果より CL, CLP, CP における HLA と連鎖した遺伝要因の関与は, それぞれ異なると考えられ, CLP および CP において, HLA と連鎖した疾患感受性あるいは抵抗性を支配する遺伝要因が存在する可能性が示唆された。
6. 3, 4 の結果は CLP, CP が多因子遺伝疾患であることと矛盾しないものであった。

稿を終えるにあたり, ご懇切なるご指導とご鞭撻ならびにご校閲をいただきました, 本学第2口腔外科学教室 榎本昭二教授ならびに同教室佐藤修博士, 杉山芳樹博士に懐んで感謝の意を表します。また本研究に際し, 終始ご懇篤なるご指導, ご教示ならびにご校閲をいただきました九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門笹月健彦教授, ならびに同教室西村泰治助教授, 五島寛先生 (現佐世保共済病院内科勤務) に深甚なる謝意を表します。さらには本研究の遂行に種々のご協力を頂きました同大学遺伝学部門の教室員各位に心より感謝の意を表します。

本論文の要旨は, 第30回口腔外科学会総会 (1985年9月, 東京), 第10回日本口蓋裂学会総会 (1986年, 長崎) および 4th Hamburg International Symposium Craniofacial Anomalies and Cleft Lip, Alveolus and Palate (1987年9月, Hamburg) において発表した。

引用文献

- 1) Moore, G.E., Ivens, A., et al.: Linkage of an X-chromosome cleft palate gene. *Nature* 326: 91-92 1987.
- 2) Poole, A.E.: Genetics of cleft lip and cleft palate. *Dent Clin North Am* 19: 171-180 1975.
- 3) Carter, C.O., Evans, K., et al.: A three generation family study of cleft lip with or without cleft palate. *J Med Genet* 19: 246-261 1982.
- 4) Bonaiti, C., Briard, M.L., et al.: An epidemiological and genetic study of facial clefting in France. I. Epidemiology and frequency in relatives. *J Med Genet* 19: 8-15 1982.
- 5) Tolarova, M.: Orofacial clefts in Czechoslovakia. *Scand J Plast Reconstr Surg* 21: 19-25

1987.

- 6) Tanaka, K., Fujino, H., et al.: Cleft lip and palate: Some evidences for the multifactorial traits and estimation of heritability based upon Japanese data. *Jap J Hum Genet* 14: 1-9 1969.
- 7) Koguchi, H.: Recurrent rate in off-spring and siblings of patients with cleft lip and/or cleft palate. *Jap J Hum Genet* 20: 207-221 1975.
- 8) 佐藤和則: 口唇裂および口蓋裂の遺伝学的研究, とくに多因子遺伝を中心として 日口蓋誌 13: 157-181 1988.
- 9) 高橋庄二郎: 口唇裂および口蓋裂の発生機序と発生原因. 日口蓋誌 15: 49-61 1990.
- 10) Fraser, F.C.: Updating the genetics of cleft lip and palate. *Birth Defects* 10:107-111 1974.
- 11) Carter, C.O.: Genetics of common single malformations. *Brit Med Bull* 32: 21-26 1976.
- 12) 石井正俊: 唇顎口蓋裂の遺伝学的研究 第1報 統計学的観察による遺伝学的研究. 一特に多因子遺伝について— 投稿中.
- 13) Fraser, F.C. and Fainstat, T.D.: Production of congenital defects in the offspring of pregnant mice treated with cortisone. *Pediatrics* 8: 527-533 1951.
- 14) Melnick, M., Jaskoll, T., et al.: Corticosteroid-induced cleft palate in mice and H-2 haplotype: Maternal and embryonic effects. *Immunogenetics* 13: 445-450 1981.
- 15) Bonner, J.J. and Tyan, M.L.: Cleft palate susceptibility maps in two H-2 subregions, H-2 k to i-b and g to h-2 d. *J Immunogenetics* 9: 243-248 1982.
- 16) Tyan, M.L. and Miller, K.K.: Genetic and environmental factors in cortisone induced cleft palate. *Proc Soc Exp Biol and Med* 158: 618-621 1978.
- 17) Biddle, F.G. and Fraser, F.C.: Cortisone induced cleft palate in the mouse. A search for the genetic control of the embryonic response trait. *Genetics* 85: 289-302 1977.
- 18) Bonner, J.J. and Slavkin, H.C.: Cleft palate susceptibility linked to histocompatibility-2 (H-2) in the mouse. *Immunogenetics* 2:213-218 1975.
- 19) Bonner, J.J. and Tyan, M.L.: Glucocorticoid-induced cleft palate in the mouse: Two major histocompatibility complex, H-2, loci with different mechanisms. *Genetics* 103: 263-276 1983.
- 20) Salomon, D.S. and Pratt, R.M.: Glucocorticoid receptors in murine embryonic facial mesenchyme cells. *Nature* 264: 174-177 1976.
- 21) Goldman, A.S., Katsumata, M., et al.: Palatal cytosol cortisol-binding protein associated with cleft palate susceptibility and H-2 genotype.

- Nature 265: 463-465 1977.
- 22) Salomon, D.S. and Pratt, R.M.: Involvement of glucocorticoids in the development of the secondary palate. *Differentiation* 13: 141-154 1979.
 - 23) Sasazuki, T., McDevitt, H.O., et al.: The association between genes in the major histocompatibility complex and disease susceptibility. *Ann Rev Med* 28: 425-452 1977.
 - 24) 渡辺 格, 脇坂明美, 他: HLA と疾病—難病の免疫遺伝学的アプローチ— *臨床免疫* 14: 1982.
 - 25) Bonner, J.J., Terasaki, P.I., et al.: HLA phenotype frequencies in individuals with cleft lip and/or cleft palate. *Tissue Antigens* 12: 228-232 1978.
 - 26) Bonner, J.J.: Studies on the major histocompatibility complex and cleft lip and/or cleft palate. *Etiology of Cleft Lip and Cleft Palate*. Alan R Liss, Inc, NY, 1980, p 499-510.
 - 27) Rapaport, F.T. and Bach, F.H.: The major histocompatibility complex (HLA) as a genetic marker in human craniofacial anomalies. *Tissue Antigens* 14: 407-421 1979.
 - 28) Pairitz, G., Erickson, R.P., et al.: Failure to detect association of isolated cleft palate with HLA antigens. *J Immunogenet* 12: 259-262 1985.
 - 29) Van Dyke, D.C., Goldman, A.S., et al.: Segregation of HLA in sibs with cleft lip and palate: Evidence against genetic linkage. *Cleft Palate J* 17: 189-193 1980.
 - 30) Van Dyke, D.C., Goldman, A.S., et al.: Segregation of HLA with oral clefts: Evidence against linkage between isolated cleft palate and HLA. *Am J Med Genet* 15: 85-88 1983.
 - 31) Rapaport, F.T., Converse, J.M., et al.: The current status of the major histocompatibility complex (HLA) in family studies of craniofacial developmental anomalies. *Etiology of Cleft Lip and Cleft Palate*. Alan R Liss Inc, N.Y., p 491-498 1980.
 - 32) Watanabe, T., Ohishi, M., et al.: Population and family studies of HLA in Japanese with cleft lip and palate. *Cleft Palate J* 21: 293-300 1984.
 - 33) Terasaki, P.I. and McClelland, J.D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* 204: 998-1000 1964.
 - 34) Terasaki, P.I., Bernoko, D., et al.: Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C, and -D antigens. *Am Soc Clin Path* 69: 103-120 1978.
 - 35) Boyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J Lab Invest* 21: 77-89.
 - 36) Woolf, B.: On estimating the relation between blood group and disease. *Ann Hum Genet* 19: 251-253 1955.
 - 37) Halden, J.B.S.: The estimation and significance of the logarithm of a ratio of frequencies. *Ann Hum Genet* 20: 309-311 1956.
 - 38) Walter, S.D.: Determination of significant relative risks and optimal sampling procedures in prospective and retrospective comparative studies of various sizes. *Am J Epidemiol* 105: 387-397 1977.
 - 39) Gail, M., Williams, R., et al.: How many controls? *J Chron Dis* 29: 723-731 1976.
 - 40) Buc, M., Nyulassy, S., et al.: HL-A 2 and congenital heart malformations. *Tissue Antigens* 5: 128-130 1975.
 - 41) Amos, D.B., Ruderman, R., et al.: Linkage between HLA and spinal development. *Transplant. Proc* 7(Suppl. 7): 93-95 1975.
 - 42) Klein, J. and Hammerberg, C.: The control of differentiation by the T complex. *Immuno Rev* 33: 71-104 1977.
 - 43) Bennett, D.: Abnormalities associate with a chromosome region in the mouse. *Science* 144: 260-267 1964.
 - 44) Hammerberg, C. and Klein, J.: Linkage disequilibrium between H-2 and t complexes in chromosome 17 of the mouse. *Nature* 258: 296-299 1975.
 - 45) Klein, J.: Many questions (and almost no answers) about the phylogenetic origin of the major histocompatibility complex. *Adv Exp Med Biol* 64: 467-478 1975.
 - 46) Ohta, N., Nishimura, Y.K., et al.: Association between HLA and Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Hum Immunol* 5: 123-132 1982.
 - 47) Ollier, W., Venables, P.J.W., et al.: HLA antigen associations with extra-articular rheumatoid arthritis. *Tissue Antigens* 24: 279-291 1984.