

(C57BL/6系統)を用いた(5)。IL-6のプロモーターはマウスMHCクラスI遺伝子であるH-2L^dを使用し、全身に発現するようにした。抗IL-6Rモノクローナル抗体(MR16-1; ラットIgG)による治療実験として、まず4週齢にて同抗体によるトランスジェニックを誘導したのち、5週から6週にかけて100 µgずつ3回皮下投与を行ない、18週齢において肺組織を病理組織学的に検討した。

キャッスルマン病での血清TGF-β濃度の推移については、インフォームド・コンセントを得た患者に対し大阪大学医学部付属病院先進医療審議会での許可のもと、ヒト型化抗IL-6R抗体による治療を行ない、これらの患者の血清TGF-β濃度をELISAにて測定した。

C. 研究結果

[In vitro]

6種類の細胞のうち、HELおよびIPF1、IPF2、IPF4の計4種類がTGF-βによる増殖活性を示し、NHLFおよびIPF3は増殖活性を示さなかった。

次に、これら4種類の細胞を用い、TGF-βによる細胞増殖に対するIFN-γとIL-6の影響を調べた。培地中のFCSはそれぞれの細胞において最もTGF-β反応性が強かった濃度(0.2%~1.0%)とし、TGF-βの濃度は至適条件である0.4 ng/mLを用いた。IFN-γ(100 ng/mL)は従来からの報告の通り細胞間で程度の差はあるもののTGF-βによる増殖を抑制し、特にIPF2ではTGF-β無添加時のレベルまで抑制した。しかしながら、IL-6/sIL-6RはHELでは影響がなく、IPF1、IPF2およびIPF4では100 ng/mLで抑制的に作用したが、IFN-γに比べるとその作用は弱いものであり、TGF-βによる増殖促進作用を打ち消すレベルには至らなかった(図1)。

I型コラーゲンの産生量は2.5 ng/mLのTGF-βの添加により72時間で1.5倍から3倍に

増加したが、100 ng/mLのIFN-γの共存下で顕著に抑えられた。IL-6/sIL-6Rは生理的濃度範囲内の100 ng/mLまでは影響を及ぼさなかった(図2)。

[In vivo]

ヒトIL-6トランスジェニックマウスはポリクローナルな高γ-グロブリン血症や肝脾腫、全身のリンパ節腫大、腎メサンギウム細胞の増生など、キャッスルマン病に似た症状を呈した。コントロール群では動脈周囲や気管支周囲に多数のリンパ球の集簇が認められ、また肺胞隔壁の浮腫状の変化と著しいリンパ球浸潤が認められた。しかしながら肺の線維化は認められなかった。これらの病理像はキャッスルマン病やシェーグレン症候群に見られるLIPの像に極めて類似していた。一方、抗IL-6R抗体投与群では細胞浸潤が軽度に留まっており、肺胞隔壁の肥厚も有意に抑制されていた(図3)。

LIPを高頻度に合併するキャッスルマン病の患者では治療前の血清中のTGF-βの増加は認められなかった。しかし、ヒト型化抗IL-6R抗体の投与期間中は血清中のTGF-β濃度が正常範囲内ではあるが低下し、治療を中止すると再び上昇した(図4)。

D. 考察

In vitroの結果から、IL-6はTGF-βによる線維化に対して全く影響がないか、あるとしてもごくわずかな抑制作用であると考えられる。したがって、IL-6とIFN-γは同じJAK-STAT経路を持ちながらも、マトリックス産生に関しては異なるシグナル伝達経路を介していることが示唆された。

ヒトIL-6トランスジェニックマウスの肺組織の病理解析から、IL-6の過剰発現が気管支周囲や肺胞隔壁へのリンパ球浸潤に関わっていること、さらに高IL-6血症を生じるだけで肺組織に病変が生じることが明らかと

なった。しかも、このマウスの肺の病理像はキャスルマン病やシェーグレン症候群などに高頻度に合併するLIPに酷似していたことから、全身性の自己免疫反応のように高IL-6血症を呈する病態に合併したLIP型の間質性肺炎のモデルとして有用であると思われる。また、このマウスを用いた抗IL-6R抗体による治療実験から、IL-6阻害によって線維化には至っていない肺組織の炎症が顕著に抑制されることが明らかとなった。

今回我々が治療を行なったキャスルマン病患者の肺組織は、リンパ球の浸潤が主で線維化はほとんど起こっていないため、血清中のTGF- β の値そのものが病態を反映しているとは考えにくい。しかしながら、IL-6の阻害により血清中のTGF- β 濃度が下がることから、ヒト型化抗IL-6R抗体が肺胞隔壁や気管支、肺血管への炎症性細胞の浸潤を抑え、結果的にTGF- β の産生を抑制した可能性がある。すなわち、炎症の起点としてIL-6の過剰産生があり、炎症によって組織が障害を受けると、その修復機構としてTGF- β がリンパ球やマクロファージをはじめとする炎症性細胞や線維芽細胞など、様々な細胞から産生され、線維化が進行し肺線維症に至ると考えられる(図5)。TGF- β の産生メカニズムは不明であるが、TGF- β はlatency-associated peptide (LAP) との複合体による不活性型として産生され、plasminのようなプロテアーゼによる切断やthrombospondin (TSP) 1, integrin $\alpha\beta 6$ との結合によって活性化されることから(6)、IL-1やTNF- β など他の炎症性サイトカインや種々のケモカインなど、複数の炎症のメディエーターがこれらを誘導し、TGF- β の活性化に関与しているのかもしれない。IL-6トランスジェニックマウスや高IL-6血症を特徴とするキャスルマン病患者では肺組織の線維化がほとんど起こらないことから、これらは何らかの理由で線維化を抑制するメカニズムが存在しているのであろう。炎症性細胞から産生される

IFN- γ とのバランスの違いによるのかもしれない。

以上のことから、ヒト型化抗IL-6R抗体によるIL-6の阻害は間質性肺炎の初期病変である炎症性細胞の浸潤を阻害し、TGF- β の産生抑制を介し不可逆的な肺線維症の発症を予防する可能性が考えられる。したがって、炎症の早期にヒト型化抗IL-6R抗体治療を行なう必要があると考えられる。今後はプレオマイシンによる間質性肺炎・肺線維症モデルマウスに対する抗IL-6R抗体を用いた予防および治療実験、あるいはIL-6ノックアウトマウスに対しプレオマイシンによる肺線維症が抑制されるかなどについて検討することにより、IL-6阻害による肺線維症の予防の有効性を明らかにしたい。

E. 結論

IL-6阻害による間質性肺炎の治療の可能性が示唆された。

[参考文献]

1. Yoshida M, Sakuma J, Hayashi S, et al. A histologically distinctive interstitial pneumonia induced by overexpression of the interleukin 6, transforming growth factor beta 1, or platelet-derived growth factor B gene. Proc Natl Acad Sci USA 92:9570-9574, 1995.
2. Johkoh T, Muller NL, Ichikado K, et al. Intrathoracic multicentric Castleman disease: CT findings in 12 patients. Radiology 209:477-481, 1998.
3. Ulloa L, Doody J, Massague J. Inhibition of transforming growth factor-beta/SMAD signalling by the interferon-gamma/STAT pathway. Nature 397:710-713, 1999.
4. Nishimoto N, Ito A, Ono M, et al. IL-6 inhibits the proliferation of fibroblastic synovial cells from rheumatoid arthritis patients in the presence of soluble IL-6

receptor. *Int Immunol* 12:187-193, 2000.

5. Suematsu S, Matsusaka T, Matsuda T, et al. Generation of plasmacytomas with the chromosomal translocation t(12;15) in interleukin 6 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:232-235, 1992.
6. Khalil N. TGF-beta: from latent to active. *Microbes Infect* 1:1255-1263, 1999.

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nishimoto N, Sasai M, Shima Y, Nakagawa M, Matsumoto T, Shirai T, Kishimoto T, Yoshizaki K. Improvement in Castleman's disease by humanized anti-Interleukin-6 receptor antibody therapy. *Blood* 95:56-61, 2000.
2. Atreya R, Mudter J, Finotto S, Mühlberg J, Jostock T, Wirtz S, Schüz M, Holtmann M, Schlaak JF, Lehr HA, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T, Galle PR, Rose-John S, Neurath MF. Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against inflammation: evidence in Crohn disease apoptosis in chronic intestinal and experimental colitis in vivo. *Nature Medicine* 6:583-588, 2000.
3. Nishimoto N, Ito A, Ono M, Tagoh H, Matsumoto T, Tomita T, Ochi T, Yoshizaki K. IL-6 inhibits the proliferation of fibroblastic synovial cells from rheumatoid arthritis patients in the presence of soluble IL-6 receptor. *Int. Immunol* 12:187-193, 2000.
4. Mori Y, Nishimoto N, Ohno M, Inagi R, Dhepakson P, Amou K, Yoshizaki K, Yamanishi K. Human Herpesvirus 8-encoded interleukin-6 homologue (viral IL-6) induces endogenous human IL-6 secretion. *J. Med. Virol.* 61:332-335, 2000.
5. Nishimoto N, Kishimoto T, Yoshizaki K. Anti-interleukin-6 receptor antibody treatment in rheumatic disease. *Ann. Rheum. Dis.* 59:121-127, 2000.
6. Mihara M, Kotoh M, Oda Y, Kumagai E, Takagi N, Tsunemi K, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T, Ohsugi Y, Takeda Y. Humanized antibody to human interleukin-6 receptor inhibits the development of collagen arthritis in monkeys. *Clin.Immunol.*, 2000 (in press)
7. 中原英子, 西本憲弘, 松本智成, 吉崎和幸. 感染と IL-6. *臨床と微生物* 27:17-23, 2000.
8. 松本智成, 西本憲弘, 吉崎和幸. 慢性関節リウマチにおける抗 IL-6 レセプター療法. *炎症と免疫* 8:195-198, 2000.
9. 西本憲弘, 吉崎和幸. ウィルス感染とサイトカイン. *新臨床科医のための分子医学シリーズ. 疾患とのかかわりを探るサイトカインの最前線* (平野俊夫編). 東京; 羊土社:p146-159, 2000.
10. 西本憲弘, 吉崎和幸. 抗 IL-6 レセプター抗体. *リウマチ科* 23:558-562, 2000.
11. 西本憲弘. 抗サイトカイン療法. *膠原病診療; 専門医によるベストアドバイス; 困ったときにどう考えるか*(竹原和彦, 近藤啓文, 桑名正隆, 宮地良樹編). 東京:診断と治療社:p155, 2000.
12. 西本憲弘, 吉崎和幸. 生物学的製剤 (モノクローナル抗体). *免疫抑制薬の選び方と使い方* (三森経世編). 東京; 南江堂:p64-72, 2000.
13. 松本智成, 西本憲弘, 吉崎和幸. SSI-1/SOCS/JAB. *Surgery Frontier* 7:59-61, 2000.
14. 西本憲弘, 王鞍孝子, 宋健, 稲城玲子, 森

- 康子, 山西弘一, 吉崎和幸. HIV 感染病態における IL-6 を介した KSHV と HHV-8 のウィルス間クロストーク. 日本臨床免疫学会誌 23:586-590, 2000.
15. 西本憲弘, 吉崎和幸. Castleman 病と MCD-IL-6 シグナル阻害による治療- 悪性リンパ腫-疾患単位の確立と層別化治療- (平井久丸編). 東京: 医歯薬出版:p74-80, 2000.
 16. 西本憲弘. リンパ腫と反応性病変との境界; Castleman 病の新たな知見. 血液フロンティア 11:197-204, 2001.
 17. 西本憲弘, 中原英子, 吉崎和幸. ヒト型化抗 IL-6 レセプター抗体による Castleman 病の治療. Annual Review 血液 2001 (高久史鷹, 溝口秀昭, 小宮山淳, 坂田洋一, 金倉讓編). 東京: 中外医学社:p158-164, 2001.
 18. 菅又泰博, 西本憲弘, 吉崎和幸. ヒト型化抗 IL-6 レセプター抗体による Castleman 病治療. 血液・腫瘍科 42, 2001 (in press).
 19. 西本憲弘. 近未来の治療法: 抗サイトカイン療法を中心に. Medicina 38, 2001 (in press)
 20. 西本憲弘. RA のサイトカイン療法. 現代医療 33, 2001 (in press).
 21. 杉本正道, 西本憲弘, 吉崎和幸. IL-6 と分子治療 (自己免疫疾患). Molecular Medicine 38, 2001 (in press).
 22. 西本憲弘. インターロイキン 6 のシグナル阻害による骨粗鬆症の発症予防と治療. 中富健康科学振興財団第 11 回研究助成業績集. 東京: 中富健康科学振興財団, 2001 (in press).
 23. 吉崎和幸, 松本智成, 西本憲弘. モノクローナル抗体. 膠原病・リウマチ学 (宮坂信之編). 東京: 朝倉書店, 2001 (in press).
2. 学会発表
 1. 王鞍孝子, 西本憲弘, 松本智成, 山西弘一, 吉崎和幸. KSHV/HHV-8 由来 vIL-6 による HIV 複製の増強. 第 14 回近畿エイズ研究会学術集会. 2000 年 5 月 (大阪).
 2. 西本憲弘, 松本智成, 吉崎和幸. 抗 IL-6R 抗体療法. 第 21 回日本炎症学会. 2000 年 7 月 (東京).
 3. 中原英子, 西本憲弘, 松本智成, 吉崎和幸. 慢性炎症病態におけるサイトカイン依存性血管新生-IL-6 は VEGF を介し Castleman 病の血管新生を引き起こす-. 第 21 回日本炎症学会. 2000 年 7 月 (東京).
 4. 吉崎和幸, 松本智成, 西本憲弘. ヒト型化抗 IL-6 受容体抗体の生物学的製剤としての意義. 第 28 回日本臨床免疫学会. 2000 年 9 月 (東京).
 5. 西本憲弘, 王鞍孝子, 宋健, 稲城玲子, 森康子, 山西弘一, 吉崎和幸. HIV 感染病態における IL-6 を介した KSHV/HHV-8 とのウィルス間クロストーク. 第 28 回日本臨床免疫学会. 2000 年 9 月 (東京)
 6. 松本智成, 西本憲弘, 吉崎和幸. IL-6/soluble IL-6 receptor induce SOCS-1 and SOCS-3 messenger RNA expression in synovial cell. 第 64 回米国リウマチ学会. 2000 年 10 月 (フィラデルフィア).
 7. 西本憲弘, 岡田泰典, 小幡賢一, 松本智成, 中原英子, 岸本忠三, 吉崎和幸. Reduction of serum matrix metalloproteinase-3 in rheumatoid arthritis patients following anti-IL-6 receptor antibody therapy. 第 64 回米国リウマチ学会. 2000 年 10 月 (フィラデルフィア).
 8. 中原英子, 吉崎和幸, 松本智成, 西本憲弘. Interleukin-6 may cause

angiogenesis through VEGF induction
in Castleman's disease. 第42回米国
血液学会. 2000年12月 (サンフラン
シスコ).

II. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

唾液腺培養上皮細胞を用いたシェーグレン症候群における
サイトカイン、ケモカイン、アポトーシス関連分子に関する研究

菅井 進（金沢医科大学血液免疫内科）

研究要旨

シェーグレン症候群（以下 SS）唾液腺組織障害における唾液腺上皮細胞の役割を解明するため、ヒト唾液腺上皮細胞の特異的培養法を確立し、得られた細胞の遺伝子発現を解析し、正常唾液腺上皮細胞と比較検討した。培養細胞は EGF レセプター陽性、 α -amylase 1 陰性の導管上皮細胞であった。この細胞を $IFN\gamma$ の存在および非存在下で培養し、RT-PCR 法により唾液腺組織障害関連分子（サイトカイン、ケモカイン、アポトーシス関連分子）の発現を解析したところ、SS 唾液腺上皮細胞は、1) $IFN\gamma$ 刺激により IL-6 発現が増大し、また $TNF\alpha$ を発現している例を認めた、2) $IFN\gamma$ 非存在下において T 細胞ケモカインである IP-10 および Mig の発現を認める例があり、 $IFN\gamma$ 刺激にてそれらの発現が増大した、3) Bcl-2 は予想されるバンドより約 50bp 短い PCR 産物を生じた、など正常唾液腺上皮細胞と異なる点を認めた。SS においては浸潤リンパ球のみならず唾液腺上皮細胞も積極的に局所の免疫反応に関与しており、病態形成に寄与していることが示唆された。

A.研究目的

シェーグレン症候群（SS）唾液腺における組織障害の分子機構の解明は SS の治療戦略を考える上で重要である。我々は、ヒト唾液腺組織を用いた検討により SS 唾液腺においてサイトカイン、ケモカイン、アポトーシス関連分子、CD40/CD40L 等の副刺激分子を同定し、これらが唾液腺病変の形成および進展に関与する因子である事を報告した。

今回、SS 唾液腺病変の形成および進展における唾液腺上皮細胞の関与を解析するため、ヒト唾液腺組織からの上皮細胞の特異的培養法を確立し、得られた上皮細胞を用いて、1) サイトカイン、2) ケモカイン、3) アポトーシス関連分子について検討した。

B.研究方法

1) ヒト唾液腺組織からの上皮細胞の培養および characterization

患者より承諾を得た後、生検で得られた口唇小唾液腺組織を細切し、組織片をコラーゲンコートしたプラスチックプレートに静置し、下記の組成からなる培養液を用いて培養した(1: Ham's F12, 2: Ca free DMEM, 2.5% FCS, 2mM glutamine, 100U/ml penicillin & 100 μ g/ml streptomycin, 0.4 μ g/ml hydrocortisone, 5 μ g/ml insulin, 10ng/ml EGF, 25 μ g/ml bovine pituitary extract)。数週後、上皮細胞の増殖が認められ、70-80% confluency に達した状態にて継代培養を行った。継代培養の際は FCS 濃度を 1%とし

た。得られた細胞の遺伝子発現 (EGF レセプター、 α -amylase 1、CD3 δ) および表面抗原を解析した。

2) ヒト唾液腺培養上皮細胞の遺伝子発現の解析

上述の方法により得られた細胞を、IFN γ (1000U/ml)の存在および非存在下で12時間培養し、RT-PCR法により唾液腺組織障害関連分子 (サイトカイン、ケモカイン、アポトーシス関連分子) の発現を解析した。

C. 研究結果

1) ヒト唾液腺培養上皮細胞

得られた細胞はプラスチックに付着して増殖し、上皮細胞の形態学的特徴を有していた (図1)。RT-PCR法にてこれらの細胞は、EGFレセプター陽性、 α -amylase 1 および CD3 δ 陰性であり (図2)、また免疫細胞染色にてEMA (Epithelial membrane antigen)陽性であった。これらより、この培養細胞は唾液腺導管上皮由来の細胞であり、腺房細胞およびリンパ球分画は含んでいないと考えられた。

2) ヒト唾液腺培養上皮細胞の遺伝子発現
SS患者5例および健常者2例より、培養細胞を得、以下の遺伝子の解析を行った。

a) サイトカイン (図3)

EGF、HGF、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IFN γ 、TNF α 、TGF α 、TGF β につき検討した。SSおよび正常唾液腺上皮細胞においてIFN γ 存在および非存在下ともにEGF、HGF、IFN γ の発現は認めなかった。両者においてIL-1 α 、IL-1 β 、TGF α 、TGF β はIFN γ 非存在下で発現しており、IFN γ 刺激により発現が増大した。IL-6およびTNF α は5例中3例のSS唾液腺上皮細胞にて発現を認め、IFN γ 刺激にてその発現が増大した。正常唾液腺上皮細胞

においては、IL-6の発現はIFN γ 刺激にて減少し、TNF α の発現はIFN γ 存在および非存在下ともに認めなかった。

b) ケモカイン (図4)

SDF-1 α 、SDF-1 β 、IP-10、Migにつき検討した。SS唾液腺上皮細胞ではIFN γ 非存在下において5例中3例でIP-10またはMigの発現を認めたが、正常唾液腺上皮細胞ではIP-10、Migの発現を認めなかった。IFN γ はSSおよび正常唾液腺上皮細胞においてIP-10およびMigの発現を誘導した。IFN γ 存在および非存在下ともにSDF-1 α 、SDF-1 β の発現は認めなかった。

c) アポトーシス関連分子 (図5)

Fas/FasLおよびBcl-2ファミリー分子 (Bcl-2、Bcl-x、Bax) の発現を検討した。SSおよび正常唾液腺上皮細胞は、IFN γ 非存在下においてFasを発現している例を認め、IFN γ 刺激にてFasの発現が増大した。両者においてFasLの発現は認めなかった。またSSおよび正常唾液腺上皮細胞は、種々の程度にBcl-x、Baxを発現しており、IFN γ はBcl-xの発現を増大させる傾向を示した。興味深いことに、正常唾液腺上皮細胞ではBcl-2の発現を認めなかったが、すべてのSS培養上皮細胞においてBcl-2は予想されるバンド (293bp) より約50bp短いPCR産物 (約240bp) を認めた。

D. 考察

我々の確立した方法により得られたヒト唾液腺培養上皮細胞は導管細胞の特徴を有し、SS唾液腺病変の解析に非常に有用である。これによりSS唾液腺において上皮細胞がサイトカインやケモカイン、アポトーシス関連分子を発現していることが示され、浸潤細胞のみならず上皮細胞も唾液腺病変の進展に関わっていることが示唆された。またこれら分

子の発現調節が正常唾液腺上皮細胞と異なっている可能性が示され、特に Bcl-2 は予想されるバンドより約 50bp 短い PCR 産物を SS 培養上皮細胞に特異的に認め、この意義についてさらなる検討が必要である。

今後、上述の解析をさらに推し進め、また 1) 上皮細胞の増殖を調節する因子、2) 上皮細胞のアポトーシスを調節する因子の解析を施行する。将来的には本研究により、SS 唾液腺における組織障害のメカニズムの解明がなされ、病態生理に基づいた新たな治療法を開発することを目標とする。

E. 結論

我々の確立した方法により得られたヒト唾液腺培養上皮細胞は SS 唾液腺病変の解析に有用である。これにより SS 唾液腺上皮細胞における組織障害関連遺伝子発現の異常が示唆された。今後これらの解析をさらに進め、唾液腺組織障害機序を明らかにし、病態生理に基づいた治療法を開発を行う。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Sugai, S.: Sjogren's syndrome associated with liver and neurological disorders, and malignant lymphoma. Intern.Med. 2000, 39:3, 260-265.

2. 学会発表

1、小川法良、江幡和美、岡田順、齋藤博美、金昌基、正木康史、和野雅治、広瀬優子、菅井進。シェーグレン症候群 (SS) 唾液腺の細胞浸潤におけるケモカインの関与。第 97 回日本内科学会総会 京都、2000 年。日本内科学会雑誌 89 臨時増刊:217.

2、小川法良、江幡和美、岡田順、齋藤博美、

金昌基、正木康史、和野雅治、広瀬優子、菅井進。シェーグレン症候群 (SS) 唾液腺の細胞浸潤におけるケモカインの関与。第 44 回日本リウマチ学会総会 横浜、2000 年。リウマチ 40:2, 385.

3、小川法良、金昌基、正木康史、和野雅治、菅井進。シェーグレン症候群における T 細胞特異的ケモカインの解析。第 30 回日本免疫学会 仙台、2000 年。日本免疫学会総会 学術集会記録 30:116.

4、Noriyoshi Ogawa, Susumu Sugai. IP-10 and Mig attract activated T cells expressing CXCR3 in the salivary gland in patients with Sjogren's syndrome. 第 28 回アメリカリウマチ学会 フィラデルフィア 2000 年 11 月。Arthritis Rheum. 43:9, S407.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

4. 該当なし

シェーグレン症候群唾液腺細胞アポトーシス誘導機序に関する研究

江口 勝美（長崎大学医学部第一内科）

研究要旨

シェーグレン症候群（SS）唾液腺細胞のアポトーシスによる細胞死は、SSの唾液腺機能障害を引き起こす重要な機序である。今回、SS唾液腺細胞のアポトーシスを制御する液性および細胞性の因子を検討した。免疫組織および培養唾液腺細胞株を用いた検討により、SS唾液腺細胞のアポトーシスを誘導する重要な因子として Fas および TNF- α や IFN- γ などサイトカインの関与が考えられた。TNF- α や IFN- γ は抗アポトーシス蛋白発現を抑制し唾液腺細胞のアポトーシスを誘導するとともに、これら細胞の Fas 依存性アポトーシスへの感受性を増大させることが明らかとなった。唾液腺細胞の Fas 依存性アポトーシスは唾液腺浸潤 T 細胞（CD4⁺T 細胞）の Fas ligand（FasL）に加え、腺房細胞由来の可溶性 FasL（sFasL）により惹起される可能性も示唆された。HTLV-I 感染は SS 発症のリスクファクターであるが、今回の研究によりこの発症機序にも HTLV-I 感染 T 細胞（CD4⁺T 細胞）の機能的 FasL 発現増強およびアポトーシス抵抗性の獲得によることが考えられた。今後はこれら基礎的研究をもとに、細胞表面のレセプターレベルまた細胞内のアポトーシス関連蛋白発現調節を介する唾液腺細胞特異的な SS の治療法の開発が期待される。

A. 研究目的

TUNEL 法で組織学的にアポトーシス陽性細胞を検出するとシェーグレン症候群（SS）唾液腺組織では、唾液腺細胞優位にアポトーシス像が認められ、唾液腺細胞のアポトーシスによる細胞死機序の解明は SS の治療につながる重要なテーマであることが示唆される。今回、生検唾液腺組織および培養ヒト唾液腺細胞株を用い、SS 唾液腺細胞アポトーシスを誘導するエフェクター分子の解析を行った。

B. 研究方法

1. アポトーシス関連蛋白の組織学的発現：インフォームドコンセントを得た SS 患者の口唇小唾液腺生検組織を用い、アポトーシス誘導蛋白として FADD、TRADD を、また、抗アポトーシス蛋白として cIAP1、cIAP2 の発

現を検討した。

2. 培養細胞を用いた検討：ヒト唾液腺細胞株（HSG 細胞）を用い、HSG 細胞の Fas 依存性（抗 Fas 抗体添加による）およびサイトカイン誘導性アポトーシスを DNA 断片化（PI 染色）、ミトコンドリア機能異常（ミトコンドリア膜電位の低下、およびカスパーゼ活性化により評価した。

3. HTLV-I 感染による SS 発症機序の検討：HTLV-I associated myelopathy（HAM）症例では高率に SS を合併する。今回、インフォームドコンセントを得た HAM 患者末梢血 CD4⁺T 細胞の機能的 FasL 発現をウエスタンブロット法と Fas 陽性細胞への細胞傷害性で、またこれら細胞のアポトーシス抵抗性をエトポシドにより評価した。

4. 腺房細胞由来可溶性 Fas ligand（sFasL）

による唾液腺細胞（導管上皮細胞）傷害の可能性：以前の私たちの組織学的検討により、腺房細胞の FasL および導管上皮細胞の Fas はともに管腔側優位に発現していることが確認されている。そこで唾液中の sFas/sFasL の検出、唾液腺造影による唾液腺破壊の程度、および HSG 細胞培養上清中の sFas/sFasL の検出により、腺房細胞由来 sFasL による導管上皮細胞 Fas 依存性アポトーシス誘導の可能性を検討した。

C. 研究結果

1. 組織学的検討：以前の私たちの検討により、SS 口唇小唾液腺組織の腺房・導管上皮細胞には Fas/FasL、また、抗アポトーシス蛋白として XIAP の強い発現が検出されたが、それに加え Fas や TNF- α 誘導性アポトーシスのアダプター蛋白である FADD と TRADD、および XIAP と同じ IAP ファミリー蛋白に属する cIAP2 の発現がこれら細胞群に認められた。cIAP1 発現は検出されなかった。これらアポトーシス関連蛋白の発現はコントロール症例（口腔乾燥症状はあるも SS と診断されえなかった症例）ではきわめて軽度であった。

2. HSG 細胞を用いた in vitro でのアポトーシス誘導：HSG 細胞は Fas を強く発現し抗 Fas 抗体添加によりアポトーシスが誘導され、DNA 断片化、ミトコンドリア膜電位の低下、およびカスパーゼ活性化（カスパーゼ 3、カスパーゼ 8、カスパーゼ 9 の活性化）が検出された。TNF- α と IFN- γ は各々単独で XIAP や Bcl-2 など抗アポトーシス蛋白発現を抑制し HSG 細胞のアポトーシスを誘導するとともにこれら細胞の Fas 依存性アポトーシス感受性も増大させた（図 1 および図 2）。

3. HTLV-I 感染による SS 発症機序の検討：HAM 症例では高率に SS を合併する。HAM 患者末梢血 CD4⁺T 細胞は強く FasL を発現し正常人末梢血 CD4⁺T 細胞に比べ、有意に Fas 陽性細胞にアポトーシスを誘導した。しかしながら HAM 患者末梢血 CD4⁺T 細胞は

Bcl-xL 発現が亢進しており、エトポシドで誘導されるアポトーシスには正常人末梢血 CD4⁺T 細胞と比較しきわめて抵抗性を示した。

4. sFasL による唾液腺細胞 Fas 依存性アポトーシス誘導の可能性：唾液中の sFas および sFasL 濃度を ELISA 法にて検討した。正常人コントロールと比較し、SS 症例では唾液中の sFas、sFasL 濃度は高値であった。唾液腺造影による唾液腺破壊の程度を Rubin-Holt I と II-IV 群間に分けて検討すると、sFas 濃度は I と II-IV 群間で差異はなかったが、sFasL 濃度は II-IV 群で明らかに高値を示した（図 3）。HSG 細胞培養上清中にも sFasL は検出され、この濃度は HSG 細胞を TNF- α や IFN- γ で培養することにより顕著に上昇した。

D. 考察

これらの結果より、以下のことが考えられる。

1. 免疫組織学および培養唾液腺細胞株を用いた検討により、SS 唾液腺細胞には Fas およびサイトカインでアポトーシスが誘導され、唾液腺機能障害が惹起されることが示唆された。炎症性サイトカイン（TNF- α と IFN- γ ）は唾液腺細胞の抗アポトーシス蛋白の発現を抑制しこれら細胞のアポトーシスを誘導するとともに、Fas 依存性アポトーシス感受性も増強させると考えられた。

2. HTLV-I 感染は SS 発症のリスクファクターであるが、HTLV-I 感染により感染 CD4⁺T 細胞はアポトーシス抵抗性になることが考えられた。一方、これら CD4⁺T 細胞の機能的 FasL 発現は亢進し、Fas 陽性の唾液腺細胞への傷害性（Fas 依存性アポトーシスの誘導能）も増強することが示唆された。

3. SS 唾液腺細胞の Fas 依存性アポトーシスは唾液腺浸潤 T 細胞（CD4⁺T 細胞）に発現する FasL（膜型 FasL）に加え、腺房細胞由来の sFasL により誘導される可能性も示唆された。

E. 結論

SS 唾液腺組織には TNF- α や IFN- γ などサイトカインの強い発現とともに活性化 T 細胞、特に CD4⁺T 細胞の顕著な浸潤が認められる。今回の私たちの研究により、これら液性および細胞性因子は SS 唾液腺細胞のアポトーシスによる細胞死誘導に深く関与し、SS 唾液腺機能障害を惹起することが示唆された。HTLV-I も感染 CD4⁺T 細胞のアポトーシス抵抗性の獲得および Fas 陽性唾液腺細胞への Fas 依存性アポトーシス誘導機序などにより唾液腺機能障害、ひいては SS を発症させるものと考えられる。今後はこの基礎的検討をもとに唾液腺細胞表面のレセプターレベル（サイトカインレセプターや Fas など）や細胞内のアポトーシス関連蛋白レベルでこれら細胞のアポトーシス感受性を調節し、SS の病態を制御しうる可能性が強く示唆される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hida, A., Eguchi, K. (他 9 名、last author): Nuclear factor- κ B and caspases co-operatively regulate the activation and apoptosis of human macrophages. *Immunology* 99: 553-560, 2000.
2. Nakamura, H., Eguchi, K. (他 7 名、last author): Relationship between Sjögren's syndrome and human T-lymphotropic virus type I infection: Follow-up study of 83 patients. *J. Lab. Clin. Med.* 135: 139-144, 2000.
3. Nakamura, H., Eguchi, K. (他 9 名、last author): Expression and Function of X-Chromosome-Linked Inhibitor of Apoptosis Protein in Sjögren's Syndrome. *Lab. Invest.* 80: 1421-1427, 2000.
4. Tominaga, M., Eguchi, K. (他 11 名、last author): Expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) in labial salivary glands of Sjögren's syndrome.

Clin. Exp. Immunol. 122: 459-463, 2000.

5. 佐野統、江口勝美 (他 3 名、4 番目): シェーグレン症候群と COX-2. *リウマチ科* 23: 124-130, 2000.
6. 川上純、江口勝美: CD95 (Fas), FasL. *臨床免疫* 34 (Suppl. 19): 649-654, 2000.
7. 川上純、江口勝美 (他 1 名、last author): 腺房・導管上皮細胞のアポトーシスとその制御. *リウマチ科* 24: 441-445, 2000.

2. 学会発表

1. 蒲池誠、江口勝美 (他 10 名、last author): TNF- α , IFN- γ によるヒト唾液腺細胞株アポトーシスの誘導. 第 44 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p384, 2000.
2. 中村英樹、江口勝美 (他 8 名、last author): シェーグレン症候群患者唾液中の可溶性 Fas、FasL の増加. 第 44 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p383, 2000.
3. 江口勝美: HTLV-I 感染と自己免疫. 第 21 回日本炎症学会プログラム予稿集 p385, 2000.
4. 江口勝美 (他 6 名、first author): HTLV-I 感染とシェーグレン症候群の発症・進展機序. 第 28 回日本臨床免疫学会総会抄録集 p368, 2000.
5. 川上純、江口勝美: HTLV-I 感染とリウマチ性疾患. 第 10 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会抄録集 p7, 2000.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

(4) 研究成果の刊行に関する一覧表

5. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
小池隆夫 (他 7 名)	Serum-free coculture system for ex vivo expansion of human cord blood prozitive progenitors and SCID mouse-reconstituting cells using human bone marrow primary stromal cells.	Exp Hematol	29	174-182.	2001
小池隆夫 (他 9 名)	Plasma tumor necrosis factor α levels and the -238* a promoter polymorphism in patients with antiphospholipid syndrome.	Thromb Haemost	85	198-203	2001
小池隆夫 (他 10 名)	Serum-free coculture system for ex vivo expansion of human cord blood prozitive progenitors and SCID mouse-reconstituting cells using human bone marrow primary stromal cells.	Exp.Hematol.	29	19-29	2001
小池隆夫 (他 9 名)	A possible role for lamivudine as prophylaxis against hepatitis B reactivation in carriers of hepatitis B who undergo chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma.	Bone Marrow Transplantation.	27	433-436	2001
小池隆夫	Antiphospholipid antibodies in arterial thrombosis.	Ann Med	32	27-31	2000
小池隆夫 (他 1 名)	Hepatic Mnifestations of the antiphospholipid syndrome.	Int.Med.	39:1	6-7	2000
小池隆夫 (他 4 名)	Heterogeneous behavior anti- β 2-glycoprotein.	J. Rheumatol.	22	391-397	2000
小池隆夫 (他 6 名)	Association of antiphospholipatidylserine/prothombin autoantibodies with HLA class II genes.	Arthritis Rheum.	43	683-688	2000
小池隆夫 (他 2 名)	Accelerated atheroma andanti- β 2-glycoprotein I antibodies.	Lupus.	9	210-216	2000
小池隆夫 (他 6 名)	Effects of β 2glycoprotein I and monoclonal anticardiolipin antibodies on extrinsic fibrinolysis.	Seminars Thrombosis Hemostasis	26	85-90	2000
小池隆夫 (他 1 名)	Cardiac valve diseases and antiphospholipid syndrome.	Int.Med.	39	446-447.	2000
小池隆夫 (他 4 名)	Lytic epstein-barr virus infection in the synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis.	Arthritis.Rheum	43	1218-1225	2000
小池隆夫 (他 1 名)	Antiphospholipid syndrome in the elderly.	Int .Med	39	529-530	2000
小池隆夫 (他 12 名)	Proteolytic cleavage of β 2-glycoprotein I: reduction of antigenicity and the structural relationship.	Int Immunol	12	1183-1192	2000
小池隆夫 (他 8 名)	Coagulation and fibrinolytic activities in 2siblings with β 2-glycoprotein I deficiency.	Blood	96:4	1594-1595	2000
小池隆夫 (他 10 名)	β 2-blycoprotein I deficiency: prevalence, genetic background and effects on plasma lipoprotein metabolism and hemostasis.	Atherosclerosis	152	337-346	2000
小池隆夫 (他 6 名)	Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-proteronbin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant.	Arthritis Rheum.	43	1982-1985	2000
小池隆夫 (他 11 名)	Large scale purification of human blood CD34+ cells from cryopreserved peripheral blood stem cells,using a nylon-fiber syringe system and immunomagnetic microspheres.	Bone Marrow Transplantation.	26	787-793	2000
小池隆夫 (他 8 名)	Neurotoxicity of advanced glycation end-products cultured cortical neurons.	J.Neuropathol Exp. Neurology.	59	1094-1105	2000
小池隆夫 (他 5 名)	Immunological evidence that non-carboxymethylsine advanced glycation end-products are produced from short chain sugars and dicarbonyl compounds in vivo.	Molecular Medicine.	6	114-125	2000
小池隆夫 (他 10 名)	Phospholipid-bound β 2glycoprotein I induces the production of anti-phospholipid antibodies.	J. Autoimm	15	1315-1317	2000
小池隆夫 (他 4 名)	β 2-blycoprotein I -anti- β 2-blycoprotein I Interaction.	J Autoimm	15	961-965	2000
小池隆夫 (他 8 名)	Mannose-binding lectin polymorphisms in patients with hepatitis C virus Infection.	Scand J Gastroenterol.	9	961-965	2000

小池隆夫 (他 8 名)	Effective high-dose chemotherapy combined with CD34 ⁺ -selected autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with cutaneous CD30-negative Large T cell Lymphoma.	Bone Marrow Transplantation,	25	1315-1317	2000
竹内 勤 (他 8 名)	Complement component 9 deficiency is not a susceptibility factor for SLE.	Lupus	9	456-457	2000
竹内 勤 (他 3 名)	Mikukicz' disease and Sjogren's syndrome.	Invest Ophthalmol Vis Sci	41	1666-1673,	2000
竹内 勤 (他 3 名)	Serum levels of IFN-inducible protein-10 relating to the activity of systemic lupus erythematosus.	Cytokine	12:10	1561-1565	2000
鏑田武志 (他 6 名)	CD72 negatively regulates signaling through the antigen receptor of B cells.	J. Immunol.	164	1223-1229.	2000
鏑田武志 (他 1 名)	B cell tolerance and autoimmunity.	Rev. Immunogenet.	2	18-25	2000
鏑田武志 (他 5 名)	Rapid B cell apoptosis induced by antigen receptor ligation does not require Fas (CD95/APO-1), the adapter protein FADD/MORT1 or CrmA-sensitive caspases but is defective in both MRL- ^{+/+} and MRL- ^{lpr/lpr} mice.	Int. Immunol.	12	517-526	2000
鏑田武志 (他 15 名)	Ras mediates effector pathways responsible for pre-B cell survival, which is essential for the developmental progression to the late pre-B cell stage.	J. Exp. Med.	191	2113-2120	2000
西本憲弘 (他 7 名)	Improvement in Castleman's disease by humanized anti-Interleukin-6 receptor antibody therapy.	Blood	95	56-61	2000
西本憲弘 (他 15 名)	Blockade of interleukin 6 trans signaling suppresses T-cell resistance against inflammation: evidence in Crohn disease apoptosis in chronic intestinal and experimental colitis in vivo.	Nature Medicine	6	583-588	
西本憲弘 (他 7 名)	IL-6 inhibits the proliferation of fibroblastic synovial cells from rheumatoid arthritis patients in the presence of soluble IL-6 receptor.	Int. Immunol	12	187-193	2000
西本憲弘 (他 7 名)	Human Herpesvirus 8-encoded interleukin-6 homologue (viral IL-6) induces endogeneous human IL-6 secretion.	J. Med. Virol.	61	332-335	2000
西本憲弘 (他 2 名)	Anti-interleukin-6 receptor antibody treatment in rheumatic disease.	Ann. Rheum. Dis	59	121-127	2000
広瀬幸子 (他 10 名)	Preface and overview:genetics of SLE; A sine qua non for identification.	Intern.Rev. Immunol.	19	289-295	2000
広瀬幸子 (他 6 名)	CD8+ T cell-mediated skin disease in mice lacking IRF-2,the transcriptional attenuator of interferon - α/β signaling.	J. Autoimmunity	14	151-157	2000
広瀬幸子 (他 11 名)	Polymorphisms in IgG Fc receptor IIB regulatory regions associated with autoimmune susceptibility.	Immunogenetics	51	429-435.	2000
広瀬幸子 (他 5 名)	Seven color fluorescence imaging of tissue samples based on Fourier spectroscopy and singular value decomposition.	J. Histochem. Cytochem.	48	653-662.	2000
広瀬幸子 (他 10 名)	Genetic aspects of inherent B-cell abnormalities associated with SLE and B-cell malignancy: Lessons from New Zealand mouse models.	Int Rev.Immunol.	19	389-421	2000
松下 祥 (他 5 名)	Analysis of T-cell responses to the β 2-glycoprotein I-derived peptide library in patients with anti- β 2-glycoprotein I antibody-associated autoimmunity.	Hum. Immunol	61	366-377	2000
松下 祥 (他 4 名)	Ligatin of HLA-DR molecules on B cells induces up-regulated transcription of IgM heavy chain genes in association with Syk activation.	J. Biol. Chem.	275	34998-35005.	2000
松下 祥 (他 9 名)	Fine specificity of T cells reactive to human PDC-E2 163-176 peptide, the immunodominant autoantigen in primary biliary cirrhosis: Implications for molecular mimicry and cross-recognition among mitochondrial autoantigens.	Hepatology	32	901-909	2000
松下 祥	Assessment of T cell response to IL-12 in humans with leprosy.	In Proceedings of 35th U.S.-Japan Conference on Tuberculosis / Leprosy.		88-92	2000
松下 祥 (他 2 名)	Antigen-presenting cells are differentially activated through HLA-DR, -DQ and -DP molecules.	FASEB J.	14	A1054	2000
松下 祥 (他 2 名)	Ligatin of HLA-DR molecules on B cells induces up-regulated transcription of IgM heavy chain genes in association with Syk activation.	FASEB J.	14	A1158.	2000

松下 祥 (他 2 名)	Adenoviral transfer of cyclin-dependent kinase inhibitor genes suppresses collagen-induced arthritis in mice.	Signaling through class II HLA molecules expressed on B cells and monocytes	2	211	2000
松下 祥 (他 2 名)	Monocytes are differentially activated through HLA-DR, -DQ, -DP molecules via MAP kinases.	J. Immunol.	166	2202-2208.	2000
宮坂信之 (他 6 名)	Adenoviral transfer of cyclin-dependent kinase inhibitor genes suppresses collagen-induced arthritis in mice.	J. Immunol.	164	2463-247	2001
宮坂信之 (他 8 名)	Deficiency of STE20/PAK family kinase LOK leads to the acceleration of LFA-1 clustering and cell adhesion of activated lymphocytes.	FEBS Letter	468	234-238	2000
宮坂信之 (他 4 名)	Induction of anti-DNA antibodies by immunization with anti-DNA antibodies: mechanism and characterization.	Lupus	9	489-497	2000
宮坂信之 (他 8 名)	Stage-specific expression of mucosal addressin cell adhesion molecule-1 during embryogenesis in rats.	J. Immunol.	164	2463-2471	2000
宮坂信之 (他 4 名)	Mannose trimming targets mutant α_2 -plasmin inhibitor for degradation by the proteasome.	J. Biol. Chem.	275	4981-4987	2000
宮坂信之 (他 5 名)	A novel point mutation of the splicing donor site in the intron 2 of the plasmin inhibitor gene.	Thromb Haemost	84	307-311	2000
宮坂信之 (他 7 名)	Activation of autoreactive T cells that help nucleobindin-injected mice produce anti-DNA antibodies.	Immunol. Lett	75	111-115	2001
石津 明洋 (他 5 名)	Transduction of a murine dominant negative activation transcription factor 1 increases cell surface expression of the class I major histocompatibility complex on a human epidermoid tumor cell.	Immunol.	12	161-168	2000
江口 勝美 (他 10 名)	Nuclear factor- κ B and caspases co-operatively regulate the activation and apoptosis of human macrophages.	Immunology	99	553-560	2000
江口 勝美 (他 8 名)	Relationship between Sjögren's syndrome and human T-lymphotropic virus type I infection: Follow-up study of 83 patients.	J. Lab. Clin. Med.	135	139-144	2000
江口 勝美 (他 11 名)	Expression and Function of X-Chromosome-Linked Inhibitor of Apoptosis Protein in Sjögren's Syndrome.	Lab. Invest.	80	1421-1427	2000
江口 勝美 (他 13 名)	Expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) in labial salivary glands of Sjögren's syndrome.	Clin. Exp. Immunol.	122	459-463	2000
佐々木 毅 (他 5 名)	A repressor element in the 5'-untranslated region of human Pax5 exon 1A	Gene	263	29-66	2001
佐々木 毅 (他 4 名)	Detection of monoclonal proteins by capillary electrophoresis using a zwitterion in the running buffer	Clinica Chimica Acta	299	87-99	2000
佐々木 毅 (他 10 名)	Chemically modified ribozyme to V gene inhibits anti-DNA production and the formation of immune deposits caused by lupus lymphocytes	J Immunol	165	5900-5905	2000
佐々木 毅 (他 8 名)	Detection of mutations in adenine phosphoribosyltransferase (APRT) deficiency using the LightCycler system	J Clin Lab Anal	14	274-279	2000
佐々木 毅 (他 8 名)	Cloning of a coproporphyrinogen regulatory element binding protein.	Biochem biophys ResCommun	273	596-602	2000
佐々木 毅 (他 3 名)	Detection of complement-fixing anti-phospholipid antibodies in association with thrombosis	Thrombo Heamos	83	728-731	2000
佐々木 毅 (他 8 名)	In vitro leukemia cell models of Ara-C resistance	Leukemia Research	24	535-541	2000
佐々木 毅 (他 4 名)	Anti-K-ras ribozyme induces a growth inhibition and an increased chemosensitivity of human colon cancer cells	Cancer gene Therapy	7	495-500	2000
佐々木 毅 (他 7 名)	A quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction method for the detection of leukemic cells with t (8;21) in peripheral blood	Eur J Haematology	64	252-258	2000
佐々木 毅 (他 8 名)	Cloning of a coproporphyrinogen oxidase promoter regulatory element	Biochem Bioph Res. Co.	273	596-602	2000
佐々木 毅 (他 6 名)	Autoantibodies to fibrillin 1 in systemic sclerosis	Arthritis Rheum	43:1	2464-2471	2000
篠原 隆司 (他 2 名)	Facilitation of β selection and modification of positive selection in the thymus of PD-1-deficient mice.	J. Exp. Med	191:5	891-897.	2000
篠原 隆司	Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7	J. Exp. Med	192	1027-	2000

(他 18 名)	family member leads to negative regulation of lymphocyte activation.		: 7	1034.	
篠原 隆司 (他 10 名)	Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice.	Science	291	319-322.	2001
菅井 進	Sjogren's syndrome associated with liver and neurological disorders, and malignant lymphoma.	Intern.Med.	39 : 3	260-265	2000
田中良哉	Integrin activation by chemokines: Relevance to inflammatory adhesion cascade during T cell migration. Histol	Histopathol.	15	1169- 1176.	2000
田中良哉 (他 9 名)	Intercellular adhesion molecule 1 underlies the functional heterogeneity of synovial cells in patients with rheumatoid arthritis.	Arthritis Rheum	43:1 1	2513- 2522	2000
徳永勝士 (他 8 名)	Tumor necrosis factor α 5'-flanking region, TNF receptor II and HLA-DRB1 polymorphisms in the Japanese patients with rheumatoid arthritis.	Arthritis Rheum.	43	753-757	2000
徳永勝士 (他 2 名)	Single nucleotide polymorphisms in the coding regions of human CXC-chemokine receptors CXCR1, CXCR2, and CXCR3.	Genes Immun.	1	330-337	2000
徳永勝士 (他 4 名)	Independent contribution of HLA-DRB1 and TNF α promoter polymorphisms to the susceptibility to Crohn's disease.	Genes Immun	1	351-357	2000
徳永勝士 (他 4 名)	New polymorphisms of human CD80 and CD86. Lack of association with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus.	Genes Immun	1	428-434	2000
徳永勝士 (他 4 名)	New single nucleotide polymorphisms in the coding region of human TNFR2.	Genes Immun	1	501-503	2000
徳永勝士 (他 2 名)	New variations in human OX40 ligand (CD134L) gene.	Genes Immun	1	521-522	2000
徳永勝士 (他 名)	Fine localization of a major disease-susceptibility locus for diffuse panbronchiolitis.	Am. J. Hum. Genet.	66	501-507	2000
徳永勝士 (他 4 名)	Worldwide differences in the incidence of insulin autoimmune syndrome (Hirata disease) with respect to the evolution of HLA-DR4 alleles. Hum.	Hum. Immunol.	61	154-157.	2000
徳永勝士 (他 6 名)	Protein binding of a DRPLA family through arginine-glutamic acid dipeptide repeats is enhanced by extended polyglutamine.	Hum. Mol. Genet.	9	1433-142	2000
西村孝司 (他 11 名)	Potential of antitumor effect of NKT cell ligands, α -galactosylceramide by combination with IL-12 on lung metastasis of malignant melanoma cells..	Clin. Exp. Metastasis	18	147-153	2000
西村孝司 (他 6 名)	Indispensable role for TNF- α and IFN- γ at the effector phase of liver injury mediated by Th1 cells specific to hepatitis B virus surface antigen.	J. Immunol	165	956-961	2000
西村孝司 (他 13 名)	The interface between innate and acquired immunity: Glycolipid antigen presentation by CD1d-expressing dendritic cells to natural killer T cells induces the differentiation of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes	Int. Immunol	12	987-994	2000
西村孝司 (他 7 名)	Functional heterogeneity among bone marrow-derived dendritic cells conditioned by Th1- and Th2-biasing cytokines for the generation of allogeneic cytotoxic T lymphocytes..	Int. Immunol	12	335-342	2000
西村孝司 (他 12 名)	α -galactosylceramide induces early B-cell activation through IL-4 production by NKT cells.	Cell Immunol	199	37-42	2000
西村孝司 (他 8 名)	The critical role of Th1-dominant immunity in tumor immunology	Cancer Chemother. Pharmacol.	46	52-61	2000
西村孝司 (他 10 名)	Molecular cloning of novel type I cytokine receptor	Blood.	95	2204-211	2000
西村孝司 (他 9 名)	Interleukin-4-dependent induction of preproenkephalin in antigen-specific T helper-type 2 (Th2) cells	J. Neuroimmunol.	105	103-108	2000
西村孝司 (他 5 名)	Establishment of self priming cell culture system for monitoring genetically-controlled spontaneous cytokine-producing ability in mice	Immunol. Lett.	70	173-178	2000
橋本博史 (他 5 名)	Effect of intravenous cyclophosphamide in systemic Lupus erythematosus relation to lymphocyte subsets and activation markers.	Lupus	9	26-32	2000
橋本博史 (他 6 名)	Scleroderma: report of a case.	Mod Rheumatol	10	51-53	2000
橋本博史 (他 10 名)	CD134L engagement enhances human B cell Ig production: CD154/CD40, CD70/CD27, and CD134/CD134L interactions coordinately regulate T cell-dependent B cell responses1.	Am Assoc Immunol		4098- 4104	2000
橋本博史 (他 6 名)	Changes of CD4/CD8 ratio and interleukin-16 in systemic lupus erythematosus	Clin Rheumatol	19	270-274	2000
橋本博史	The liver in collagen diseases: pathologic study of 160 cases with	Liver 2000	20	366-373	2000

(他 10名)	particular reference to hepatic arteritis, primary biliary cirrhosis, autoimmune hepatitis and nodular regenerative hyperplasia of the liver.				
橋本博史 (他 8名)	Possible mechanism underlying the efficacy of low dose cyclosporine in autoimmune diseases.	Clin Exp Rheum	17	265-266	2000
原 まさ子 (他 5名)	Raised plasma adrenomedullin in patients with systemic sclerosis complicated by pulmonary hypertension.	Ann. Rheum. Dis.	59:6	493-494	2000
原 まさ子 (他 7名)	Dermatomyositis with splenic and renal infarctions during corticosteroid therapy.	Internal Medicine	39:6	512-516	
原 まさ子 (他 5名)	Systemic lupus erythematosus with myocardial dysfunction due to microvasculopathy.	Lupus	9	464-467	2000
原 まさ子 (他 7名)	KL-6 as a novel serum marker for interstitial pneumonia associated with collagen diseases.	J. Rheumatol.	27	1164-1170	2000
原 まさ子 (他 3名)	Increased CD40 expression on muscle cells of polymyositis and dermatomyositis: Role of CD40-CD40 ligand interaction in IL-6, IL-8, IL-15, and monocyte chemoattractant protein-1 production.	J. Immunol.	164	6593-6600	2000
原 まさ子 (他 3名)	Progressive appearance of overlap syndrome together with autoantibodies in a patient with fatal thrombotic microangiopathy.	Amer. J. Med. Sci.	320	348-351	2000
平形 道人	Humoral aspects of polymyositis/dermatomyositis	Mod.Rheumatol	10	199-206	2000
平形 道人 (他 1名)	Interstitial lung disease in polymyositis and dermatomyositis.	Curr. Opin. Rheumatol	12:6	501-508	2000
平形 道人 (他 6名)	: A case of polymyositis associated with hepatitis B infection.	Clin. Exp. Rheumatol.	18:1	86-88.	2000
平形 道人 (他 5名)	Systemic lupus erythematosus associated with Down syndrome: Report of a case and review of the literature.	Clin. Exp. Rheumatol	18:5	650-651	2000
平形 道人 (他 6名)	Myositis and interstitial lung disease associated with autoantibody to a transfer RNA-related protein Wa.	J. Rheumatol	27	2707-2710	2000
松浦 栄次 (他 4名)	Heterogeneous behavior of anti-β2-glycoprotein I antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with β2-glycoprotein I.	J. Rheumatol.	27	391-396.	2000
松浦 栄次 (他 1名)	Accelerated atheroma and anti-β2-glycoprotein I antibodies.	Lupus	9	210-216	2000
松浦 栄次 (他 12名)	Proteolytic cleavage of β2-glycoprotein I: reduction of antigenicity and the structural relationship.	Int. Immunol	12	1183-1192	2000
松浦 栄次 (他 10名)	β2-Glycoprotein I deficiency: prevalence, genetic background and effects on plasma lipoprotein metabolism and hemostasis.	Atherosclerosis	152	337-346	2000
松浦 栄次 (他 6名)	Association of autoantibodies against the phosphatidylserine-prothrombin complex with manifestations of the antiphospholipid syndrome and with the presence of lupus anticoagulant.	Arthritis Rheum	43	1982-1993	2000
松浦 栄次 (他 4名)	β2-glycoprotein I-anti-β2-glycoprotein I interaction.	J. Autoimmun	15	97-100	2000
簗田 清次 (他 7名)	Amlodipine increases nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated cultured vascular smooth muscle cells.	J.Hypert.	18:1	1597-1604	2000
簗田 清次 (他 6名)	Nucleolin as the earliest target molecule of autoantibodies produced in MRL/lpr lupus-prone mice.	Clin. Immunol	97:1	50-58	2000
簗田 清次 (他 6名)	Clinical features of dermatomyositis in the presence or absence of malignancy.	APLAR J. Rheumatol	3:3	217-220	2000
簗田 清次 (他 7名)	Dermatomyositis and cutaneous necrosis: report of five cases.	Mod Rheumatol	10	117-120	2000
簗田 清次 (他 3名)	In vitro and in vivo inhibition of activation induced T cell apoptosis by bucillamine.	J. Rheumatol.	27	1358-1364	2000
簗田 清次 (他 11名)	Gene transfer into rat renal cells using adeno-associated virus vectors.	Am. J. Nephrol	20	242-247	2000
簗田 清次 (他 7名)	Autoantibodies against chaperonin CCT in human sera with rheumatic autoimmune diseases: comparison with antibodies against other Hsp60 family proteins	Cell Street & Chaperones	5	337-346	2000

養田 清次 (他 9 名)	Subarachnoid hemorrhage and systemic lupus erythematosus.	Lupus.	9	521-526	2000
養田 清次 (他 2 名)	Lingual and gingival ulcers as oral symptoms of Wegener's granulomatosis: report of a case.	Oral Med Pathol	5	109-112	2000
養田 清次 (他 5 名)	Fluvastatin upregulates inducible nitric oxide synthase expression in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells.	Hypertension.	36	923-928	2000
三村 俊英 (他 7 名)	Impaired collagen gel contraction with cultured skin fibroblasts from patients with systemic sclerosis.	Scad. J. Rheumatol.	29	124-126	2000
三村 俊英 (他 6 名)	Protein-losing enteropathy associated with hypocomplementemia and anti-nuclear antibodies.	J. Gastroenterol.	35	627-630	2000