

ライト (MICA-A6) が健常人に比べて有意に高頻度である²⁾。MICA 分子は主に腸管上皮に存在する V δ 1⁺T 細胞の T 細胞リセプターのリガンドであると同時に、キラー活性を有する細胞膜表面に発現されるキラー活性増強を誘導する NKG2D 分子のリガンドであることが報告されている³⁾⁴⁾。MICA 分子の発現はベーチェット病で病変のみられる皮膚、粘膜上皮 (眼ぶどう膜、口腔、腸管など)、血管内皮に局限している。また、ベーチェット病患者の病変部位で $\gamma\delta$ T 細胞や CD8⁺細胞などのキラー活性を有する細胞の増加が報告されていることから、MICA 分子が $\gamma\delta$ T 細胞などのキラー活性増強を介してベーチェット病の病態形成へ関与することが推測される。ただし、HLA-B と MICA の遺伝子座には強い連鎖不平衡が存在し、MICA とベーチェット病の統計学的な相関は単に HLA-B との強い関連を反映しているにすぎない可能性も指摘されている。しかしながら、HLA-B51 トランスジェニックマウスでは好中球機能亢進は観察されたもののベーチェット病にみられる臨床症状は発現せず⁵⁾、ベーチェット病の発症には HLA-B51 以外の遺伝または環境要因が必要と考えられている。そこで、我々はベーチェット病の病態誘導に HLA-B51 と MICA-A6 の両者が関連する可能性を考えた。すなわち、MICA の膜貫通領域の A6 マイクロサテライト領域を含むペプチドが B51 分子上に提示され、それを認識する CD8⁺T 細胞が粘膜上皮の MICA 発現細胞を傷害し、炎症性病態を誘導する仮説である。昨年度の本研究班において、我々はベーチェット病患者の一部で MICA-A6 部分を含むペプチド (A6 ペプチド) を認識する T 細胞が存在することを報告した⁶⁾。そこで、本年度は A6 ペプチ

ドに対する T 細胞の反応性と HLA-B51 の有無、ベーチェット病の疾患活動性との関連を検討した。

B. 研究方法および対象

1. 対象

厚生労働省研究班の診断基準を満たすベーチェット病患者12例 (完全型4例、不全型8例) および健常人4例を対象とした。ベーチェット病患者3例では経過中に繰り返し解析を行った。全例においてB51の有無をDNAタイピングにより決定した⁷⁾。眼病変の活動性は虹彩毛様体、網膜ぶどう膜所見および眼発作回数により評価した。

2. ペプチドの合成と精製

コンピュータプログラムにより予測したB51高親和性のMICA膜貫通領域のA6部分を含む9-merペプチド (A6ペプチド; AAAAAIFVI) およびHLA-B51低親和性ですべてのMICAアリルに共通する部分をコードするペプチド (コントロールペプチド; GKDLRMTL) を固相法により合成した。ペプチドは液相クロマトグラフィーにより分画精製し、マスマスペクトロメトリーを用いて分子量を確認した。

3. A6ペプチド反応性T細胞株の樹立

A6ペプチド刺激によるT細胞株の樹立は既知の方法に準じて行った⁶⁾。すなわち、比重遠心法により分離した末梢血単核球 (PBMC; 1.5×10^6) を $2 \mu\text{g/ml}$ のペプチド存在下で2時間培養し、放射線照射後に stimulator として用いた。PBMC (1.5×10^5) と stimulator を混ぜて培養し、翌日に IL-2 (50 U/ml) を加えた。その後1週間毎に計6回、増殖した細胞をペプチドをパルスした stimulator と 1:10 の比率で

混合し、IL-2存在下で刺激した。一部の検体では3回目以降の刺激のstimulatorとして放射線照射したEBウイルスでトランスフォームした自己B細胞株を用いた。

4. ペプチド特異的反応性の検討

3回または6回のA6ペプチド刺激により得られたT細胞株を、A6またはコントロールペプチド存在または非存在下で2時間培養したPBMCと1:2の比率で培養した。24時間後に培養上清を回収し、上清中のIFN- γ 濃度を抗IFN- γ モノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISA法により測定した

(倫理面への配慮)

すべての患者、健常人の検体は学内の倫理委員会で承認された文書によるインフォームドコンセントを得た上で提供を受けた。

C. 研究結果

ベーチェット病患者12例中7例、健常人4例中2例がB51陽性であった。これら全例の末梢血T細胞をA6ペプチドで反復刺激し、得られたT細胞株のA6ペプチドに対する反応性を検討した。図1にベーチェット病患者における代表的な結果を示す。MY、SNではペプチドなしでもIFN- γ の産生がみられたが、A6ペプチド添加によりIFN- γ 産生が増強した。HKでは、ペプチド非存在下でみられたIFN- γ 産生はA6ペプチドを添加しても変化なく、A6特異的な反応を認めなかった。一方、MIではA6ペプチド存在下でのみIFN- γ 産生が検出された。いずれの例においてもコントロールペプチドによるIFN- γ 産生増強は認められなかった。図1に示した4例以外のベーチェット病患者8例と健常人4例全例ではペプチドの有無にかかわらずIFN- γ の産生はみられなかった。したがって、A6ペプチドによる特異的なT細胞

の反応はベーチェット病患者12例中3例に検出された。興味深いことに、A6ペプチドに対する反応性を示した3例はすべてB51陽性であった。

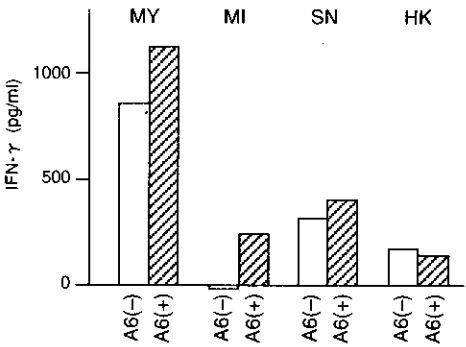


図1. A6ペプチド刺激により培養上清中に産生されたIFN- γ 。ベーチェット病患者4例の末梢血T細胞をA6ペプチドで反復刺激することによって得られたT細胞株を用いて、A6ペプチド存在下、または非存在下で抗原提示細胞と24時間共培養した後の上清中のIFN- γ 濃度を測定した。

A6ペプチドと反応した3例のうち2例は完全型、1例は不全型であったが、共通して眼病変を有していた。3例全例で検体採取時に眼病変の活動性を認めたため、治療により眼病変が改善した後に再度同様の解析を行った(図2)。その結果、2例は眼病変の鎮静化に伴ってA6ペプチド刺激により誘導されるIFN- γ 産生が消失した。また、眼病変のコントロールが困難であった1例においても、活動性が低下した時期にIFN- γ 産生量の減少を認めた。

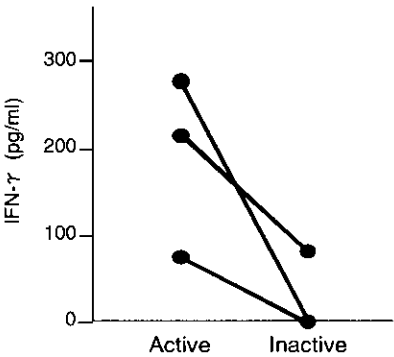


図2. ベーチェット病患者3例におけるA6ペプチド刺激によるT細胞株からのIFN- γ 産生量の経時的変化と眼病変活動性との関連。A6ペプチド存在下で産生されたIFN- γ 産生量からペプチドなしで産生されたIFN- γ 産生量を差し引いた値を示す。

D. 考察

MICA の膜貫通領域のマイクロサテライト配列を含む A6 ペプチドに対する T 細胞の反応性は B51 陽性のベーチェット病患者のうち、疾患活動性を有する例に特異的に検出された。したがって、MICA-A6 を認識する CD8⁺T 細胞がベーチェット病の炎症性病態に関与している可能性が考えられた。この成績はベーチェット病の発症に HLA-B51 と MICA-A6 の両者の組み合わせが重要であることを示す。これまで、ベーチェット病で病態と直接関与する T 細胞として Hsp60/65 などに対する T 細胞が報告されているが、いずれも CD4⁺であり、疾患感受性遺伝子である HLA-B 拘束性 CD8⁺T 細胞の報告はない。今回、ベーチェット病患者において、B51 分子に提示されて T 細胞の活性化を誘導する抗原として MICA が初めて同定された。

MICA 分子の発現は上皮細胞、血管内皮細胞、ケラチノサイトなどに限られ⁸⁾、ベーチェット病にみられる病変分布と一致する。また MICA 分子の発現は、熱などのストレスにより誘導され⁹⁾、ベーチェット病患者における臨床症状の悪化が細菌感染や機械的な刺激により誘導される知見とも一致する。MICA 分子は外界と接する皮膚や粘膜の細胞でストレスにより発現誘導され、傷ついた細胞が $\gamma\delta$ 細胞をはじめとしたキラー活性を有する T 細胞により認識、除去される際の目印と考えられている¹⁰⁾。したがって、ベーチェット病の病態はストレスで傷ついた外界と接する細胞を処理する際の過剰な免疫応答と理解することもできる。B51 と MICA-A6 を併せ持つ者では、通常の MICA を介した傷害細胞の処理機構のみならず B51 に拘束された MICA-A6 部分

を認識する CD8⁺細胞傷害性 T 細胞も加わることで免疫応答が増強される可能性がある。この仮説については今後のさらなる検証が必要であるが、ベーチェット病の病因、病態を解明する上で重要な知見と考えられる。

E. 結論

ベーチェット病患者末梢血中の MICA-A6 の膜貫通領域を認識する T 細胞は B51 拘束性で疾患活動性と相関することから、ベーチェット病の病態と関連する可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

<引用文献>

- 1) Nakae K, Masaki F, Hashimoto T et al. Recent epidemiological features of Behcet's disease in Japan. In: Wechsler B, Godeau P, eds. Behcet's disease. Amsterdam: Excerpta Medica, 1993:145-51.
- 2) Mizuki N, Ota M, Kimura M et al. Triplet repeat polymorphism in the transmembrane region of the MICA gene: A strong association of six GCT repetitions with Behcet's disease. Proc Natl Acad Sci 1997; 94: 1298-1303.
- 3) Groh V, Steinle A, Bauer S et al. Recognition of Stress-Induced MHC Molecules by Intestinal Epithelial $\gamma\delta$ T cells. Science 1998; 279: 1737-1740.
- 4) Bauer S, Groh V, Wu J et al. Activation of NK Cells and T Cells by NKG2D, a Receptor for Stress-Inducible MICA. Science 1999; 285:

727-729.

5) Takeno M, Kariyone A, Yamashita N et al. Excessive function of peripheral blood neutrophils from patients with Behcet's disease and from HLA-B51 transgenic mice. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 426-433.

6) 桑名正隆、安岡秀剛、河上裕. ベーチェット病におけるMICAに対するT細胞の検討. 厚生科学研究ベーチェット病に関する研究平成12年度研究報告書, 2001; pp103-108.

7) Bunce M, O'Neill CM, Barnardo MCNM, et al. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5 & DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens* 1995; 46: 355-367.

8) Bahram S, Bresnahan M, Geraghty DE et al. A second lineage of mammalian major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6259-6263.

9) Groh V, Bahram S, Bauer S et al. Cell-stress regulated human major histocompatibility complex class I gene expressed in gastrointestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 12445-12450.

10) Hagmann M. A trigger of natural (and other) killers. *Science* 1999; 285: 645-646.

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kuwana M, Kaburaki J, Kitasato H, et

al. Immunodominant epitopes on glycoprotein IIb-IIIa recognized by autoreactive T cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Blood* 2001; 98: 130-139.

2) Kuwana M, Feghali CA, Medsger TA Jr, et al. Autoreactive T cells to topoisomerase I in monozygotic twins discordant for systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1654-1659.

3) Arai T, Yoshida K, Kaburaki J, et al. Autoreactive CD4⁺ T cell clones to β 2-glycoprotein I in patients with anti-phospholipid syndrome: preferential recognition of the major phospholipid-binding site. *Blood*. 2001; 98: 1889-1896.

2. 学会発表

桑名正隆: 自己抗体産生における自己反応性T細胞の役割. 第51回日本アレルギー学会総会(福岡). 平成13年10月.

H. 知的所得権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

末梢血形質細胞様樹状細胞を用いた抗原特異的免疫応答の制御

分担研究者 桑名 正隆 (慶應義塾大学医学部、先端医科学研究所)
研究協力者 河上 裕 (慶應義塾大学医学部、先端医科学研究所)
池田 康夫 (慶應義塾大学医学部、内科)

研究要旨

ベーチェット病の病態には Th1 サイトカインを分泌する CD4⁺T 細胞の活性化が関与することが知られている。これら CD4⁺T 細胞が認識する抗原の候補として Hsp60/65 や Streptococcus sanguis 由来蛋白などが考えられており、これらの T 細胞の選択的な抑制または除去はベーチェット病に対する有効な治療法となる可能性がある。そこで、CD80 などの副刺激分子の発現を欠く末梢血中の形質細胞様樹状細胞（または 2 型樹状細胞前駆細胞; pDC2）に着目し、健康人由来の破傷風トキソイド反応性 CD4⁺T 細胞株をモデルとして、pDC2 が抗原特異的 T 細胞に不応状態（アナジー）を誘導しえるかを検討した。pDC2 は末梢血単核球から既知の細胞群を除去することにより分離し、単球、B 細胞、単球由来成熟樹状細胞をコントロールの抗原提示細胞（APC）として用いた。TT 反応性 T 細胞株を抗原存在下で各種 APC と 3 日間培養し、その後の至適条件での抗原刺激により誘導される増殖反応により T 細胞の状態を評価した。自己 pDC2 は抗原存在下で CD4⁺T 細胞のアナジーを誘導したが、他の APC にその活性はなかった。アナジーに陥った T 細胞は高濃度の IL-2 存在下での抗原刺激により増殖性が回復した。pDC2 によるアナジー誘導には HLA-抗原ペプチド-T 細胞リセプターを介した pDC2 と T 細胞の結合が必須であり、T 細胞アナジーを誘導する機序として T 細胞における IL-2 産生障害と CD154 の発現低下が考えられた。ベーチェット病患者末梢血から pDC2 を分離して Hsp60/65 などをパルスした上で患者体内に戻せば病態と関与する T 細胞の選択的抑制が可能で、将来的に有望な治療法となる可能性がある。

A. 研究目的

ベーチェット病は口腔潰瘍、外陰部潰瘍、眼病変、皮膚症状を主徴とした全身性炎症性疾患であるが、その病態にはいまだ不明な点が多い。これまでの研究成果から、活動期のベーチェット病患者末梢血中に各種刺激により IFN- γ を産生する Th1 タイプの CD4⁺T 細胞の増加が報告されている。

これら CD4⁺T 細胞の認識する対応抗原の候補として Hsp60/65、Streptococcus sanguis 由来蛋白、retinal-S 抗原などが報告されている。ベーチェット病患者では症状増悪と細菌感染との関連が報告されており、またシクロスポリンなどの T 細胞機能を抑制する薬剤の有効性も示されている。したがって、特定の抗原に対する T 細胞の

免疫応答がベーチェット病の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられる。そのため、これら特定の T 細胞レパートリーの不活化あるいは除去が治療につながると思われる。

T 細胞は抗原提示細胞 (APC) により提示された抗原を T 細胞リセプター (TCR) により認識する。ただし、T 細胞の活性化には抗原ペプチドの認識のみでは不十分で、T 細胞上の CD28 や CD154 と APC 上の CD80、CD86、CD40 などの副刺激分子との結合が必要である。T 細胞が副刺激なしに抗原と結合すると、可逆性の無反応状態 (アナジー) となってしまう。アナジーに陥った T 細胞は通常の抗原刺激を受けても細胞増殖などの反応性を示さないことから、副刺激分子を欠く APC は特定の免疫応答の抑制に利用できる可能性がある。

樹状細胞 (DC) は抗原特異的に T 細胞を活性化する能力が最も高い APC である。その特性を利用して、癌抗原に対する免疫応答を増強するワクチン療法に応用されている。しかし、樹状細胞には多様なサブセットが存在し、免疫応答を誘導せずに、逆に抑制するサブセットの存在も知られている。ヒト末梢血中には少なくとも 2 種類の DC 前駆細胞が存在する。ひとつは CD11c などの骨髄球系マーカーを発現する骨髄球系 DC または 1 型 DC (DC1) の前駆細胞、もう一方は CD4⁺CD123⁺CD11c⁻HLA-DR⁺の表面マーカーを有する未分化形質細胞様 DC (immature plasmacytoid DC) または 2 型樹状細胞前駆細胞 (pDC2) である。pDC2 は T 細胞の活性化に必須な副刺激分子の発現を欠くことが報告されているため、活性化 T 細胞と抗原を介して結合すると T 細胞のアナジーを誘導することが推測される。そこで、本研究では破傷風ト

キソイド (TT) 反応性 CD4⁺T 細胞をモデルとして、pDC2 が T 細胞のアナジーを誘導しえるかを検討し、将来的なベーチェット病治療への応用の可能性を検討した。

B. 研究方法および対象

1. pDC2の分離

健康人5名より提供を受けた末梢血から比重遠心法により末梢血単核球 (PBMC) を分離した。さらにPBMCからプラスティック結合性により単球、ヒツジ赤血球とのロゼットによりT細胞をそれぞれ除去した。さらに残存するT細胞、B細胞、単球、NK細胞、造血幹細胞を抗CD3、抗CD19、抗CD14、抗CD56、抗CD34モノクローナル抗体結合磁気ビーズ (Dynal, Oslo, Norway または PerSeptive Diagnostics, Cambridge, MA, USA) と反応させた後に磁石装置により除去し、残った細胞を pDC2 分画とした。pDC2 の各種膜表面蛋白の発現はフローサイトメトリーで調べた。

2. 他のAPCの分離

単球はプラスティック結合性、B細胞はナイロウール結合性により、それぞれ PBMC から分離した。成熟 DC1 は PBMC 中の付着細胞を GM-CSF、IL-4 存在下で 1 週間培養後にさらに単球培養上清で 3 日間培養することにより得た。EB ウイルスによりトランスフォームさせた B 細胞株 (LBL) は、シクロスポリン存在下で PBMC に EB ウイルスを感染させることで得た。分離した単球分画は CD14⁺細胞が 95% 以上、B 細胞分画は CD19⁺細胞が 90% 以上で CD3⁺細胞が 2% 未満、DC1 分画には CD83⁺HLA-DR⁺細胞が 50% 以上で CD14⁺細胞が 2% 未満であった。

3. TT反応性T細胞株の樹立

PBMCをTT (5 µg/ml) で2回刺激後に限界希釈法によりTT反応性T細胞株を樹立した。2名の健常人から計3株 (K1, K3, H1) のTT反応性CD4⁺T細胞株が得られた。K1とK3はいずれもHLA-DR拘束性でTh0のサイトカイン分泌パターンを示し、H1はHLA-DRおよびDQ拘束性でTh1細胞であった。

4. T細胞アナジの誘導

APCのT細胞アナジを誘導する活性は3段階の培養により調べた。IL-2 (50 µg/ml) 存在下で抗原をパルスして放射線照射したAPCを様々な割合でTT反応性T細胞株と3日間培養した。さらにIL-2存在下で3日間培養し、アッセイに用いた。一部の実験では、HLA-DR、DQに対するモノクローナル抗体およびアイソタイプ適合コントロール抗体 (2 µg/ml) を培養開始時に添加した。また、CD4⁺、CD8⁺、CD11c⁺、またはCD123⁺細胞を抗体結合磁気ビーズを用いて取り除いたpDC2分画も用いた。

5. T細胞増殖反応

抗原特異的または非特異的T細胞増殖反応は³H-サイミジンの取り込みにより測定した。抗原としてTT (1または5 µg/ml) およびmaltose-binding protein (MBP; 10 µg/ml) を用い、LBLと共にT細胞と3日間培養した。非特異的刺激としては、PMAとionomycin、抗CD3抗体と抗CD28抗体の組み合わせを用いた。

7. サイトカイン産生能の検討

TT反応性T細胞を抗CD3抗体とPHAで48時間刺激し、上清中に産生されたIFN-γ、IL-2、IL-4、IL-10を市販のキット (R&D

Systems, Minneapolis, MN, USA) を用いて測定した。

(倫理面への配慮)

すべての検体は、学内の倫理委員会で承認を受けた文書によるインフォームドコンセントを得た上で提供を受けた。

C. 研究結果

1. pDC2の分離

PBMCからT細胞、B細胞、単球、NK細胞、造血幹細胞を除去した分画ではHLA-DR⁺CD4⁺細胞が主な細胞群として同定された。5例の健常人からの計9回の操作で得られた分画におけるHLA-DR⁺CD4⁺細胞の割合は42-68%であった。CD4⁺細胞にゲートをかけたフローサイトメトリーで検討すると、95%以上はCD11c⁻CD123⁺であった。また、分離した細胞をIL-3存在下で培養すると特徴的な突起を有するDCの形態を示したことから、得られた分画はpDC2を高頻度に含むと考えて以下の実験に用いた。pDC2はHLAクラスI、HLA-DR、CD54を発現していたが、CD80、CD86は発現せず、CD40の発現も約半数の細胞にしか検出されなかった。

2. pDC2のアナジ誘導能の検討

各種APC (pDC2、単球、B細胞、DC1、LBL) のアナジ誘導能は、TTをパルスした後にTT反応性CD4⁺T細胞株と共培養することにより検討した。図1に示すように、TTをパルスしたpDC2と3日間反応させたT細胞は、APC:T細胞比や抗原濃度にかかわらずその後のTTによる抗原刺激に対して増殖反応を示さなかった。一方、TTをパルスした他のAPCで処理したT細胞は、その後の抗原刺激により増殖

したことから、T細胞アナジーを誘導する活性はpDC2に特異的であった。

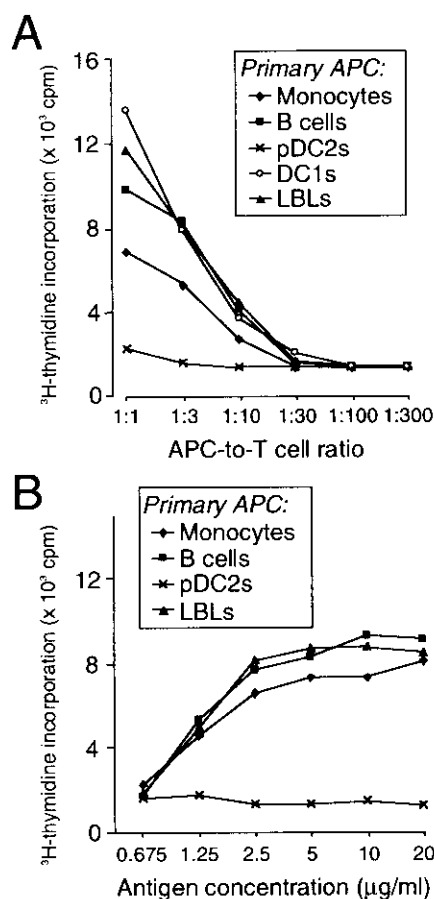


図1. 各種APCのT細胞アナジー誘導能の検討。単球、B細胞、pDC2、DC1、LBLにTT抗原をパルスし、TT反応性CD4⁺T細胞株と共培養した。さらにT細胞株のTTにより誘導される増殖反応を様々なAPC:T細胞比 (A) および抗原濃度 (B) で検討した。

次に pDC2 がアナジーを誘導するメカニズムを調べるため、様々な条件下で pDC2 を TT 反応性 T 細胞と共培養した。まず、自己あるいは HLA クラス II 不一致のアロ pDC2 を様々な APC:T 細胞比で TT 反応性 CD4⁺T 細胞株と反応させた (図 2)。自己 pDC2 は 1:300 までの APC:T 細胞比で T 細胞のアナジーを誘導したが、アロ pDC2 にはアナジーを誘導する活性はなかった。したがって、pDC2 によるアナジー誘導には HLA を介した抗原認識が必要と考えられた。この点は抗 HLA-DR 抗体の添加に

より pDC2 による T 細胞アナジーの誘導が阻害されたことから確認された。また、MBP を抗原として用いると TT 反応性 T 細胞にアナジーを誘導できないことから、pDC2 上の HLA と抗原ペプチドの複合体と TCR との結合がアナジー誘導に必須と考えられた。今回用いた pDC2 分画には他の細胞の混入が少量あったが、pDC2 分画から CD4⁺細胞または CD123⁺細胞を除去するとアナジーを誘導する活性が完全に消失したことから、pDC2 がアナジー誘導活性を有することが確認された。

さらに pDC2 との共培養によりアナジーに陥った T 細胞株における CD154 の発現を検討した。CD154 は TCR を介した刺激により一過性に T 細胞膜上に発現される分子で、CD40 のリガンドである。TT 反応性 T 細胞株を TT をパルスした LBL と共培養すると、CD154 の発現は著明に上昇したが、pDC2 との培養後には CD154 の発現レベルは変わらなかった。したがって、pDC2 から HLA-抗原ペプチド-TCR を介したシグナルが T 細胞に伝わっても CD154 の発現を誘導できないことが、T 細胞がアナジーに陥る要因の一つと考えられた。

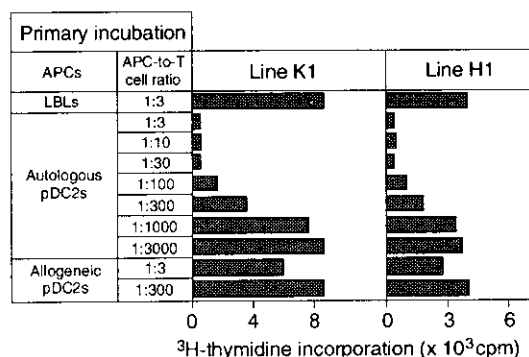


図2. T細胞アナジー誘導におけるpDC2のT細胞に対する割合とHLA適合性の検討。TT反応性CD4⁺T細胞株をTT抗原をパルスした自己またはHLA不一致アロpDC2を様々なAPC:T細胞比で共培養後に、TTによる抗原刺激により誘導される増殖反応を調べた。

3. IL-2 によるアナジ-の回復

アナジ-に陥った T 細胞は高濃度の IL-2 存在下での抗原刺激により増殖性を回復することが知られている。pDC2 により誘導されるアナジ-T 細胞においてその点を検討するため、抗原をパルスした pDC2 または LBL と共培養した TT 反応性 T 細胞株 K1、H1 を 0-1600 U/ml の IL-2 存在下で TT による抗原刺激を加えた。LBL で処理した T 細胞の増殖反応を誘導するには 100 U/ml 以下の IL-2 で十分であったが、pDC2 処理でアナジ-に陥っている T 細胞の増殖には 400 U/ml 以上の高濃度の IL-2 が必要であった。ただし、IL-2 単独ではアナジ-を回復することはできず、抗原をパルスした LBL または抗 CD3 抗体などの抗原刺激が同時に必要であった。一方、この系においては抗 CD28 抗体は抗 CD3 抗体と組み合わせても、アナジ-T 細胞の増殖を誘導しなかった。

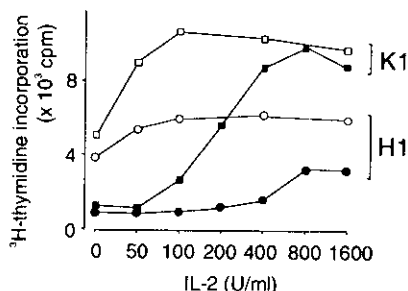


図3. IL-2によるT細胞アナジ-の回復。抗原をパルスしたpDC2 (closed square, circle) またはLBL (open square, circle) と共培養したTT反応性CD4⁺T細胞株を様々な濃度のIL-2存在下でTTによる抗原刺激により誘導される増殖反応を調べた。

4. アナジ-T細胞のサイトカイン分泌能

pDC2 処理によりアナジ-となった T 細胞のサイトカイン分泌能を調べるため、抗原パルス pDC2 または LBL と共培養した TT 反応性 Th0 細胞株 K1 および Th1 細胞株 H1 を抗 CD3 抗体と PHA で刺激し、上清中に産生された IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10

を測定した。図4に示すように、K1はpDC2処理後に IL-2 産生能を失ったが、IL-10 産生はむしろ増加していた。もうひとつの Th0 細胞株である K3 も同様に pDC2 との反応後に IFN- γ と IL-10 を発現していたことから、Th0 タイプの CD4⁺T細胞は pDC2 処理により抑制性の T regulatory cell type I (Tr1 細胞) と同様のサイトカイン分泌パターンを示した。一方、Th1 株 H1 は pDC2 との共培養後に IL-2 を産生せず、IFN- γ の発現も低下した。

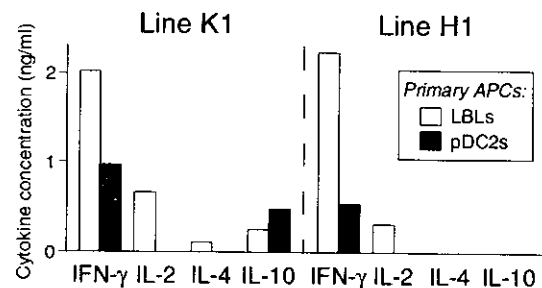


図4. アナジ-T細胞におけるサイトカイン産生能。抗原をパルスしたpDC2 (closed bar) またはLBL (open bar) と共培養したTT反応性CD4⁺T細胞株を抗CD3抗体、PHA存在下で48時間培養し、上清中に産生されたサイトカイン濃度を測定した。

D. 考察

末梢血中の DC 前駆細胞の一種である pDC2 が T 細胞の抗原特異的なアナジ-を誘導しえるかを TT 反応性 CD4⁺T 細胞株をモデルとして検討し、以下の知見を得た。

- ① TT 反応性 T 細胞は TT 存在下で自己 pDC2 と共培養すると、その後にアナジ-に陥った。pDC2 による T 細胞アナジ-誘導には APC により提示された抗原の認識が必要であった。
- ② pDC2 との共培養によりアナジ-となった TT 反応性 T 細胞は高濃度の IL-2 存在下での抗原刺激により増殖能が回復した。
- ③ pDC2 による T 細胞アナジ-誘導の機序として、T 細胞における CD154 および IL-2 発現の欠如が考えられた。

④ アナジーとなった TT 反応性 T 細胞は IFN- γ と IL-10 を産生する抑制性の Tr1 細胞として機能する可能性が考えられた。

以上の結果から pDC2 は自己反応性 T 細胞のアナジー誘導を介して末梢性トレランスの維持に重要な役割を果たしていると考えられる。pDC2 のこの特性を利用することにより、特定の抗原に対する T 細胞の免疫応答を人為的に抑えることが可能である。pDC2 を用いた免疫抑制法は従来の免疫抑制療法や免疫療法に比べて以下のような利点がある。

① 特定の抗原に対する免疫応答を選択的に抑えるため、正常の免疫機能に対する影響はきわめて少ない。

② 病態と関連する免疫反応の標的抗原がわかっているならば、いかなる疾患にも応用可能である。

③ 末梢血中の細胞をそのまま用いるので遺伝子操作や薬物などによる前処置が不要である。

④ 操作が簡単である。

⑤ 多くの抗原特異的とされる免疫療法で必要とされる T 細胞エピトープや HLA 拘束性の同定が不要である。

⑥ HLA タイプと無関係にすべての患者に対して行える。

pDC2 を用いた選択的免疫抑制法は特定の抗原に対する過剰な免疫応答のために誘導される自己免疫疾患、アレルギー性疾患、移植後の拒絶反応において、有害な T 細胞を選択的に抑制する免疫療法に応用できる可能性がある。ベーチェットにおいては直接病態を誘導する責任抗原が現時点で同定されていないが、今後それらが解明されれば pDC2 を用いた免疫療法が選択的な治療法になる可能性が考えられた。

E. 結論

末梢血中の pDC2 には抗原特異的に T 細胞のアナジーを誘導する活性があり、その特性を利用することでベーチェット病をはじめとした T 細胞の免疫応答が病態にかかわる疾患に対する選択的な免疫療法への応用が可能と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kuwana M, Kaburaki J, Wright TM, Kawakami Y, and Ikeda Y. Induction of antigen-specific human CD4⁺ T cell anergy by peripheral blood DC2 precursors. Eur. J. Immunol. 2001; 31: 2547-2557.

2. 学会発表

Kuwana M, Kaburaki J, Kawakami Y, Ikeda Y: Induction of antigen-specific human CD4⁺ T cell anergy by peripheral blood plasmacytoid dendritic cells. The 7th International Workshop on Autoantibodies and Autoimmunity. 2001. 9.

桑名正隆: 自己抗体産生における自己反応性T細胞の役割. 第51回日本アレルギー学会総会. 2001. 10.

H. 知的所得権の取得状況

1. 特許取得

桑名正隆、池田康夫: 選択的免疫応答抑制を誘導する末梢血樹状細胞サブセット (出願中、出願番号:特願2001-222120)

2. 実用新案登録

なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患調査研究事業）
分担報告研究

ベーチェット病における Th1 型炎症と T_H17

分担研究者 岳野光洋（聖マリアンナ医大 免疫学・病害動物学）
共同研究者 永渕裕子（聖マリアンナ医大 リウマチ・膠原病・
アレルギー内科）

ベーチェット病（B 病）の病態形成におけるサイトカインの役割を末梢血リンパ球及び皮膚病変部組織を用いて検討した。B 病患者末梢血リンパ球は非刺激状態で IFN- γ 産生が亢進しており、IL-4 産生の低下が認められ、Th1 型に偏寄していた。この傾向は活動性 B 病患者でとくに顕著に認められた。B 病結節性紅斑部位のサイトカイン産生も Th1 型であり、さらに IFN- γ 遺伝子の転写に関与する T_H17 の発現亢進を認めた。この T_H17 の発現亢進には IL-12, IL-18 の関与が示唆された。B 病患者では末梢血リンパ球及び病変部浸潤 T 細胞の T_H17 の発現亢進が Th1 型サイトカインの産生過剰をもたらすと考えられた。

A.研究目的

ベーチェット病（B 病）急性炎症の反復を特徴とし、その病変形成には Th1 型サイトカインが関与していると考えられている。我々は今回 Th1 型炎症の関与を明らかにする目的で末梢血リンパ球および皮膚病変部組織におけるサイトカインの産生性について検討を行った。

B. 研究方法

- ①B 病患者および正常者末梢血よりフイコール比重遠心法により回収したリンパ球を非刺激状態で培養し、培養上清中の IFN- γ 、IL-4、IL-12 の産生量を ELISA 法にて測定した。
- ②一部のリンパ球はさらに羊赤血球とのロゼット形成法で T 細胞を分離し、さらにマグネットビーズで CD4、

CD8 細胞に分画し、RT-PCR 法でその IFN - γ mRNA の発現を検討した。

- ③ベーチェット病患者の結節性紅斑の生検組織を用いて、皮膚病変部位でのサイトカイン産生を免疫組織化学染色法にて検討した。対象疾患として Th2 型疾患であるアトピー性皮膚炎の生検組織を用いた。

（倫理面への配慮）

すべての検体供給者に対し、研究の目的、使用法を説明し、同意を得た上で実験を行なった。また、プライバシーの保護のため、得られたデータは第三者に漏れないよう厳重に管理した。

C.研究結果

- ①ほとんどの BD 患者のリンパ球は非

刺激状態で、IFN- γ を自発的に産生しますが、IL-4の自発的産生は認めなかった。さらにIFN- γ 産生に関与するIL-12も自発的に産生が亢進していた。この傾向は活動期B病患者において顕著であった。

②RT-PCR法で検討した結果、BD患者で認められたIFN- γ は一部はCD8陽性T細胞からも産生されたが、殆どがCD4陽性T細胞から産生されていた。

③B病患者結節性紅斑の主な病変部位である脂肪組織には著明なIFN- γ の産生が認められた。これに対して、IL-4産生細胞は全く検出できず、これからベーチェット病がTh1型疾患であると考えられた。ちなみにTh2型疾患であるアトピー性皮膚炎では、ベーチェット病とは逆にIL-4の産生は認められたが、IFN- γ の産生は全く認められなかった。

④転写因子としてインターフェロン γ 産生に特異的に関与することが明らかとなったTxkの発現について検討した。B病患者末梢血リンパ球及び結節性紅斑部位浸潤T細胞においてTxkの発現亢進を認めた。

さらにこのTxkの発現亢進に関与することが知られているIL-12,IL-18の産生について検討した結果、B病患者皮膚病変部においてこれらサイトカインの産生亢進を認めた。

D. 考察

B病患者末梢血及び皮膚病変部におけるサイトカイン産生とTxkの発

現を検討した。B病患者末梢血及び皮膚病変部においてTh1型サイトカインの産生亢進を認め、この産生にはTxkの発現が関与していると考えられた。Txkの発現にはIFN- γ 産生を亢進させることで知られているIL-12, IL-18が関わっている。B病においてもこれらIL-12, IL-18のサイトカインの産生亢進を認めた。以上の結果からB病患者においては何らかの抗原刺激によりIL-12, IL-18の産生が亢進され、末梢血リンパ球及び病変部浸潤T細胞のTxkの発現が増強し、Th1型サイトカインの産生亢進につながるものと考えられた。

E. 結論

B病患者では末梢血リンパ球及び病変部浸潤T細胞のTxkの発現亢進がTh1型サイトカインの産生過剰をもたらすと考えられた。

F. 健康危機情報

特記事項なし

G. 研究発表

英文著書 (book)

1) Sakane T, Suzuki N, and Takeno M.: Innate and acquired immunity in Behçet's disease. Behçet's Disease (Ed. by D. Bang, S Lee, and E. S. Lee), Seoul, Korea, pp673, 2001

2) Takeno M, Shimoyama Y, and Sakane T: Spontaneous production of cytokines by neutrophils from patients with Behçet's disease. Behçet's Disease

(Ed. by D. Bang, S Lee, and E. S. Lee), Seoul, Korea, pp674-677, 2001

3) Sakane, T. and Takeno, M.: Behçet's disease-Etiopathology: immunological aspects. Behçet's Disease - a guide to its clinical understanding -text and atlas (Ed. by S Lee, D. Bang, E. S. Lee and Sohn S.), Springer Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, pp101-108, 2001

4) Takeno M, Shimoyama Y, Nagafuchi H, Suzuki, N, and Sakane T: Neutrophil hyperactivity in Behcet's disease. Immunology of Behcet's Disease. (Ed by Zierhut M and Ohno S), Swets and Zeitlinger, Lisse, Netherlands, (in press)

5) Suzuki N, Nagafuchi H, Takeba Y, Takeno M, and Sakane T: Autoimmunity in Behcet's disease. Immunology of Behcet's Disease. (Ed by Zierhut M and Ohno S), Swets and Zeitlinger, Lisse, Netherlands, (in press)

英文総説(review and editorial)

1) Takeno, M. and Sakane, T.: Vascular involvement in Behçet's disease. Internal Med. 40(1):3-4, 2001

英文原著 (original)

1) Takeba, Y., Nagafuchi, H., Takeno, M., Kashiwakura, J., Suzuki, N.: Txk, a member of non-receptor tyrosine kinase of Tec family, acts as a Th1 cell specific transcription factor and

regulates IFN-gamma gene transcription. J. Immunol. 2002 (in press)

3) Kashiwakura, J., Suzuki, N., Takeno, M., Itoh, S., Teruaki Oku, Sakane, T., Nakajin, S., Toyoshima, S: Evidence of Autophosphorylation in Txk: Y91 is an Autophosphorylation Site. Biol. Pharmaceutical Bulletin, 2002(in press)

和文著書

1) 坂根剛、岳野光洋、鈴木登：ベーチェット病。リウマチナビゲーター（山本一彦編）、メディカルレビュー、東京、pp.198-199, 2001.

2) 坂根剛、岳野光洋：ベーチェット病。看護のための最新医学講座第11巻免疫・アレルギー疾患（山本一彦編）中山書店、東京、pp.196-202, 2001

3) 坂根剛、岳野光洋：Behcet 病。リウマチ類縁疾患。NEWMOOK 整形外科（越智隆弘編）、金原出版、東京、（印刷中）

4) 岳野光洋、山下直美、坂根剛. Behcet 病. 内科学書第六版、中山書店、東京、（印刷中）

5) 坂根剛、岳野光洋：免疫抑制薬と免疫刺激薬. NEW 薬理学（田中千賀子、加藤隆一編）、南江堂、東京、（印刷中）

6) 坂根剛、岳野光洋：プリン代謝—高尿酸血症・痛風治療薬. NEW 薬理学（田中千賀子、加藤隆一編）、南江堂、東京、（印刷中）

和文総説

- 1) 岳野光洋：病因T細胞エピトープと疾患の発症機構. ベーチェット病. 臨床免疫 35(4):405-411, 2001
- 2) 岳野光洋、高井憲治：マイクロキメリズムと病態形成. . 内科 87:1398-1401,2001

学会発表

国際学会

- 1) Takeno M, Matsuda T.: Innate and acquired immunity in Behçet's disease. (Special lecture) 2nd Academic Meeting of Korean Study Group for Behçet's disease. Seoul, Korea, October 9, 2001
- 2) Takneo, M., Nagafuchi, H., Suzuki, N., Matsuda, T., Sakane T.: Frequency of IL-12 receptor bearing T cells is a simple marker to monitor the disease activity in Behcet's disease. American Rheumatism Association: 65th Annual Scientific Meeting. San Francisco, California, November 15, 2001

国内学会

- 1) Takeno, M.: Immunological aspects in Behcet's disease. MESS Symposium. 日本皮膚科学会第 108 回広島地方会. 広島、2001 年 3 月
- 2) 鈴木登、岳野光洋、武半優子.: リウマチ性疾患における Th1/Th2 バランスとその制御 (txk 遺伝子発現制御). (シンポジウム) 第 45 回日本リウマチ学会総会. 東京、2001 年 5 月
- 3) 岳野光洋、鈴木登、永渕裕子、松

田隆秀、坂根剛：ベーチェット病患者 T リンパ球における IL-12 受容体の発現と Th1 型免疫応答. 第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京、2001 年 5 月

- 4) 武半優子、鈴木登、永渕裕子、岳野光洋、金子敦史、浅井富明: ヒト Th1 細胞 Tec family チロシンキナーゼ蛋白、Txk の機能解析と各種疾患における発現. 第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京、2001 年 5 月
- 5) 岳野光洋、鈴木登、永渕裕子、坂根剛：ベーチェット病患者 T 細胞における IL-12 受容体の発現と疾患活動性の関連. 第 22 回日本炎症・再生医学会、東京、2001 年 7 月
- 6) 岳野光洋、永渕裕子、鈴木登：ベーチェット病患者 T 細胞における疾患活動性と IL-12 受容体発現. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月
- 7) 柏倉淳一、伊藤佐生智、鈴木登、岳野光洋、中陣静雄、豊島聰. Txk の IFN-g 産生における自己リン酸化の関与. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月
- 8) 武半優子、岳野光洋、鈴木登: Tec family チロシンキナーゼ蛋白、Txk の機能解析. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月
- 9) 鈴木登、岳野光洋、武半優子、永渕裕子: in vivo txk 遺伝子投与のマウス脾細胞サイトカイン産生に与える影響. . 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月

厚生科学研究費補助金（特定疾患調査研究事業）
分担報告研究

ベーチェット病の自然免疫と獲得免疫

分担研究者	岳野光洋	（聖マリアンナ医大	免疫学・病害動物学）
共同研究者	永渕裕子	（聖マリアンナ医大	リウマチ・膠原病・アレルギー内科）
	松田隆秀	（聖マリアンナ医大	リウマチ・膠原病・アレルギー内科）
	鈴木 登	（聖マリアンナ医大	免疫学・病害動物学）

ベーチェット病（B 病）活動性患者では末梢血 T 細胞のサイトカイン産生性は Th1 型に偏倚し、IL-12 受容体を過剰に発現している。今年度は IL-12 受容体発現の疾患活動性マーカーとしての臨床的有用性をさらに検証した。

一方、B 病では好中球機能過剰をはじめとした自然免疫の機能亢進が病態の一翼を担っており、我々も好中球が自発的に産生する IL-1、TNF- α 、IL-12、IL-18 などのサイトカインも Th1 型に偏倚に関与していることを指摘した。しかし、好中球を含め B 病における自然免疫系の活性化機序は明らかでない。そこで、B 病の病原的自己抗原と考えられる熱ショック蛋白 (heat shock protein; HSP)60 が好中球、マクロファージに発現する toll like receptor (TLR)4 のリガンドであるという事実に着目した。実際、マクロファージは HSP60 に反応して TNF- α を産生したが、その産生は抗 TLR4 抗体により部分的に阻害された。したがって、B 病において HSP60 は自己免疫異常の責任抗原であるとともに、自然免疫系の活性化にも関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

ベーチェット病（B 病）は熱ショック蛋白 (heat shock protein; HSP)60 に対する抗原特異的な自己免疫疾患としての側面を持ち、その病変形成には Th1 型サイトカインおよび炎症性サイトカインが重要な役割を果たしている。我々は昨年、T 細胞の IL-12 受容体 (IL-12R) の発現頻度が B 病活動期に増加することを指摘したが、本年

度は疾患活動性との関連をさらに解析した。また、Th1 型免疫応答を誘導する自然免疫の異常に関して、HSP60 をリガンドとして認識する toll like receptor (TLR)4 の関与を検討し、B 病における獲得免疫と自然免疫の異常を HSP60 という自己抗原により、一元的に説明できる可能性について考えてみた。

B. 研究方法

① 対象：B病患者 14 例（男性 4 例、女性 10 例、年齢 43.8±15.3 才）。健常人、慢性関節リウマチ（RA）患者を対照群とした。

② IL-12R の発現：IL-12 受容体の conformational epitope を認識するモノクローナル抗体（mAb）TOS（Pharminogen）を用いて CD3、CD4 に対する mAb との二重染色を行い、フローサイトメトリーで解析した。

③ サイトカイン産生性の測定：末梢血単核細胞より CD3 陽性細胞を autoMACS を用いて回収し（CD3>95%）、PHA および PMA で刺激し、24 時間後に培養上清中の IFN- γ 、IL-4 の産生量を ELISA 法にて測定した。

④ TLR の発現：二重フィコール比重遠心法により回収した好中球、末梢血単核細胞より CD14 陽性細胞を autoMACS を用いて回収した単球（CD14>95%）における TLR2 および 4 の発現を RT-PCR 法により解析した。

⑤ HSP60 刺激に対する単球による TNF- α の産生：末梢血単球を抗 TLR 抗体の存在下、非存在下でヒトリコンビナント HSP60 10 μ g/ml で 24 時間培養し、上清中の TNF- α を ELISA 法にて測定した。

（倫理面への配慮）

すべての血液供給者に対し、研究の目的、使用法を説明し、同意を得た上で採血を行なった。また、プライバシーの保護のため、得られたデータは第三者に漏れないよう厳重に管理した。

C. 研究結果

① B 病患者における疾患活動性と T 細胞の IL-12R の発現：昨年度につづき、末梢血 CD3 陽性細胞あるいは CD4 陽性細胞における IL-12R の発現を検討した結果、B 病活動期患者では B 病非活動期患者、RA 患者、健常人に比し、その発現が著明に亢進していることが明らかになった（表 1）。さらに活動期症例を個別に検討すると、IL-12R の発現増強のみならず、IFN- γ の PHA+PMA 刺激に対する産生増加、自発的産生も観察された（表 2）。

③ TLR の発現：非刺激状態で単球は TLR2 および TLR4 を、好中球は TLR4 を発現していることが RT-PCR 法により確認された（図 1）。蛋白発現量はわずかで蛍光抗体法では今のところ検出できていない。

④ HSP60 刺激に対する単球による TNF- α の産生：単球をヒトリコンビナント HSP60 で刺激すると TNF- α の産生が誘導された。抗 TLR2 抗体はほとんど影響しなかったが、抗 TLR4 抗体により部分的に抑制された。

D. 考察

昨年度に引き続き、B 病における末梢血 T 細胞における IL-12R の発現を解析し、IL-12R 発現細胞の頻度は Th1 型サイトカインである IFN- γ の産生量に相関し、さらに臨床的活動性とも強く関連していることを検証し、疾患活動性のマーカーとしての IL-12R の意義付けを明確にした。

B 病は HSP60 を責任自己抗原とし

た自己免疫疾患としての性格を持つ反面、好中球機能亢進をはじめとした自然免疫の異常も病態に関与している。近年、非的特異的免疫の門戸として注目されている TLR の中で、TLR4 は HSP60 をリガンドとして認識する。今回の成績は末梢血好中球、単球が TLR4 を介して HSP60 を認識し、活性化しうることを示している。今後、B 病患者白血球の TLR4 の発現、機能について検討し、B 病に見られる自己免疫疾患としての性格と自然免疫の機能過剰が HSP60 というひとつの key molecule により説明できるかどうか、検討する予定である。

E. 結論

1. 末梢血 T 細胞は IL-12R の発現解析は B 病疾患活動性のマーカーとして有用と考えられた。

2. HSP60 は TLR4 を介して単球を活性化する。

F. 健康危機情報

特記事項なし

G. 研究発表

英文著書 (book)

1) Sakane T, Suzuki N, and Takeno M.: Innate and acquired immunity in Behçet's disease. Behçet's Disease (Ed. by D. Bang, S Lee, and E. S. Lee), Seoul, Korea, pp673, 2001

2) Takeno M, Shimoyama Y, and Sakane T: Spontaneous production of cytokines by neutrophils from

patients with Behçet's disease. Behçet's Disease (Ed. by D. Bang, S Lee, and E. S. Lee), Seoul, Korea, pp674-677, 2001

3) Sakane, T. and Takeno, M.: Behçet's disease-Etiopathology: immunological aspects. Behçet's Disease - a guide to its clinical understanding -text and atlas (Ed. by S Lee, D. Bang, E. S. Lee and Sohn S.), Springer Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, pp101-108, 2001

4) Takeno M, Shimoyama Y, Nagafuchi H, Suzuki, N, and Sakane T: Neutrophil hyperactivity in Behçet's disease. Immunology of Behçet's Disease. (Ed by Zierhut M and Ohno S), Swets and Zeitlinger, Lisse, Netherlands, (in press)

5) Suzuki N, Nagafuchi H, Takeba Y, Takeno M, and Sakane T: Autoimmunity in Behçet's disease. Immunology of Behçet's Disease. (Ed by Zierhut M and Ohno S), Swets and Zeitlinger, Lisse, Netherlands, (in press)

英文総説(review and editorial)

1) Takeno, M. and Sakane, T.: Vascular involvement in Behçet's disease. Internal Med. 40(1):3-4, 2001

英文原著 (original)

1) Takeba, Y., Nagafuchi, H., Takeno,

M., Kashiwakura, J., Suzuki, N.: Txk, a member of non-receptor tyrosine kinase of Tec family, acts as a Th1 cell specific transcription factor and regulates IFN-gamma gene transcription. J. Immunol. 2002 (in press)

3) Kashiwakura, J., Suzuki, N., Takeno, M., Itoh, S., Teruaki Oku, Sakane, T., Nakajin, S., Toyoshima, S.: Evidence of Autophosphorylation in Txk: Y91 is an Autophosphorylation Site. Biol. Pharmaceutical Bulletin, 2002(in press)

和文著書

- 1) 坂根剛、岳野光洋、鈴木登：ベーチェット病。リウマチナビゲーター（山本一彦編）、メディカルレビュー、東京、pp.198-199, 2001.
- 2) 坂根剛、岳野光洋：ベーチェット病。看護のための最新医学講座第 11 巻免疫・アレルギー疾患（山本一彦編）中山書店、東京、pp.196-202, 2001
- 3) 坂根剛、岳野光洋：Behcet 病。リウマチ類縁疾患。NEWMOOK 整形外科（越智隆弘編）、金原出版、東京、（印刷中）
- 4) 岳野光洋、山下直美、坂根剛。Behcet 病。内科学書第六版、中山書店、東京、（印刷中）
- 5) 坂根剛、岳野光洋：免疫抑制薬と免疫刺激薬。NEW 薬理学（田中千賀子、加藤隆一編）、南江堂、東京、（印刷中）
- 6) 坂根剛、岳野光洋：プリン代謝—

高尿酸血症・痛風治療薬。NEW 薬理学（田中千賀子、加藤隆一編）、南江堂、東京、（印刷中）

和文総説

- 1) 岳野光洋：病因 T 細胞エピトープと疾患の発症機構。ベーチェット病。臨床免疫 35(4):405-411, 2001
- 2) 岳野光洋、高井憲治：マイクロキメリズムと病態形成。内科 87:1398-1401, 2001

学会発表

国際学会

- 1) Takeno M, Matsuda T.: Innate and acquired immunity in Behçet's disease. (Special lecture) 2nd Academic Meeting of Korean Study Group for Behçet's disease. Seoul, Korea, October 9, 2001
- 2) Takneo, M., Nagafuchi, H., Suzuki, N., Matsuda, T., Sakane T.: Frequency of IL-12 receptor bearing T cells is a simple marker to monitor the disease activity in Behcet's disease. American Rheumatism Association: 65th Annual Scientific Meeting. San Francisco, California, November 15, 2001

国内学会

- 1) Takeno, M.: Immunological aspects in Behcet's disease. MESS Symposium. 日本皮膚科学会第 108 回広島地方会。広島、2001 年 3 月
- 2) 鈴木登、岳野光洋、武半優子：リ

ウマチ性疾患における Th1/Th2 バランスとその制御(txk 遺伝子発現制御). (シンポジウム) 第 45 回日本リウマチ学会総会, 東京、2001 年 5 月

3) 岳野光洋、鈴木登、永渕裕子、松田隆秀、坂根剛: ベーチェット病患者 T リンパ球における IL-12 受容体の発現と Th1 型免疫応答. 第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京、2001 年 5 月

4) 武半優子、鈴木登、永渕裕子、岳野光洋、金子敦史、浅井富明: ヒト Th1 細胞 Tec family チロシンキナーゼ蛋白、Txk の機能解析と各種疾患における発現. 第 45 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京、2001 年 5 月

5) 岳野光洋、鈴木登、永渕裕子、坂根剛: ベーチェット病患者 T 細胞における IL-12 受容体の発現と疾患活動性の関連. 第 22 回日本炎症・再生医学会、東京、2001 年 7 月

6) 岳野光洋、永渕裕子、鈴木登: ベーチェット病患者 T 細胞における疾患活動性と IL-12 受容体発現. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月

7) 柏倉淳一、伊藤佐生智、鈴木登、岳野光洋、中陣静雄、豊島聡. Txk の IFN- γ 産生における自己リン酸化の関与. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月

8) 武半優子、岳野光洋、鈴木登: Tec family チロシンキナーゼ蛋白、Txk の機能解析. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月

9) 鈴木登、岳野光洋、武半優子、永

渕裕子: in vivo txk 遺伝子投与のマウス脾細胞サイトカイン産生に与える影響.. 第 31 回日本免疫学会総会、大阪、2001 年 12 月

表1. ペーチェット病患者T細胞におけIL-12受容体の発現とサイトカイン産生

	Frequency (%)				concentration (pg/ml)	
	IL-12R/CD3	IL-12R/CD4	CD25/CD3	CD25/CD4	IFN- γ	IL-4
BD active	43.9 $\pm$ 7.9	29.3 $\pm$ 3.5	4.0 $\pm$ 1.8	6.9 $\pm$ 1.7	9240 $\pm$ 2896	56.4 $\pm$ 22.5
BD inactive	9.3 $\pm$ 2.3	10.0 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 1.2	9.5 $\pm$ 2.5	3415 $\pm$ 617	5.5 $\pm$ 1.3
RA	14.8 $\pm$ 3.6	20.0 $\pm$ 3.3	4.1 $\pm$ 1.8	9.7 $\pm$ 3.0	3698 $\pm$ 362	58.9 $\pm$ 22.8
normal control	14.8 $\pm$ 1.6	12.4 $\pm$ 1.5	4.8 $\pm$ 0.7	10.1 $\pm$ 1.6	2991 $\pm$ 782	9.4 $\pm$ 5.1

表 2 . 活動性患者におけるT細胞IL-12受容体の過剰発現

patient	sex	age	symptoms	CRP (mg/dl)	IL-12R /CD3(%)	IFN- γ (pg/ml)	
						spontaneous	PMA+PHA
YK	M	29	thrombophlebitis, folliculitis	1.2	59.3	-	18167
RS	M	38	thrombophlebitis	1.3	22.2	7.3	4803
MW	F	38	genital ulcer, fever	2.2	50.2	68.5	5120
KM	M	60	folliculitis, oral aphtha, fever	8.1	43.9	30.0	14115

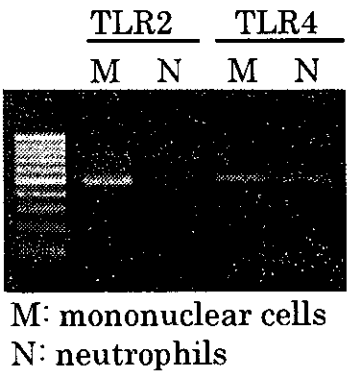


図1. mRNA expression of TLR2 and TLR4

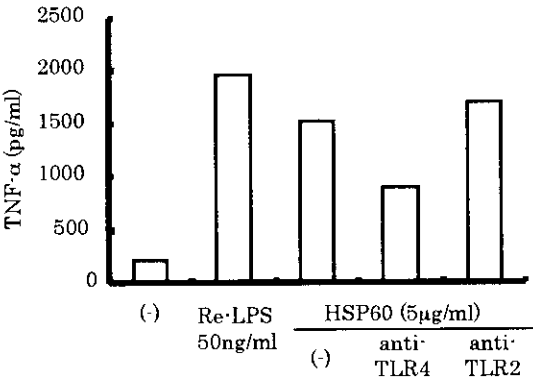


図2. TNF- α production by CD14+ cells