

膠原病における IL-15 の検討：難治性病態との関連

橋本 博史 戸叶 嘉明 鈴木 淳 名切 裕 満尾晶子 片桐 彰 森本 真司
(順天堂大学 膠原病内科)

研究要旨

膠原病で血中 IL-15 を測定し、臨床所見との関連を検討した。膠原病の中では、結節性多発動脈炎、強皮症、多発性筋炎/皮膚筋炎で高値で、血管炎・間質性肺炎 (IP)・血球貪食症候群といった難治性病態と関連していた。IL-15 高値の症例は予後が不良で、剖検では Diffuse Alveolar Damage 等の組織破壊が認められ、モデルマウスへの IL-15 投与実験でも類似の傾向を認めた。IL-15 増加の頻度の高い IP を併発した症例では T 細胞の IL-2R/IL-15R γ 鎖の発現が高い傾向を示し、IL-15 による T 細胞の異常活性化の可能性が示唆された。

A. 研究目的

膠原病の予後は近年、著しく改善し、長期の管理を必要とする患者の増加が認められる。それに伴い、経過中治療に苦慮する難治性の病態や治療による合併症が問題になってきている。難治性の病態として、未だに解決すべき課題として残っているのが、間質性肺炎 (IP)・肺高血圧症等の肺病変、血球貪食症候群 (HPS)・自己免疫性血小板減少等の血液病変、CNS ループス等の神経病変、ANCA 関連血管炎等の血管病変、難治性ループス腎炎等の腎病変が挙げられる。

一方、IL-15 は主に局所の組織から産生される強力な T 細胞増殖因子であり、T 細胞の活性化が主要な病態である膠原病が難治性になる要因の一つの候補である。

我々は本研究班における分担する研究課題として“膠原病(主に SLE)の長期予後に影響を及ぼす病態とその対策”をテーマとして掲げたが、初年度は長期予後に密接に影響する難治性病態に着目し、前述の IL-15 の関与につき検討してみた。

B. 研究方法

1. 対象

IL-15 の測定は関節リウマチ (RA) 11 例、全身性エリテマトーデス (SLE) 53 例、多発性筋炎/皮膚筋炎 (PM/DM) 11 例、強皮症 (SSc) 7 例、混合性結合組織病 (MCTD) 3 例、結節性多発性動脈炎 (PAN) 10 例と正常人 24 例で行われた。

IL-2R/IL-15R γ 鎖の測定は IP のある膠原病 3 例、IP のない膠原病 3 例、正常人 3 例で行われた。

2. 血中 IL-15 の測定

2種類のモノクローナル抗ヒト IL-15 抗体を用いた Sandwich ELISA 法で行われた。

3. IL-15 の投与実験

MRL マウス 16 週齢から 1 週間、以下の方法でリコンビナント IL-15 を腹腔内に注射した。

高用量群: 1 回 5 万 IEU 1 日 2 回 7 日間

低用量群: 1 回 2.5 万 IEU 1 日 2 回 7 日間

対照群: 生食を上記の方法で注射

注射終了後、3 週間後 (20 週齢) で、3 群とも解剖

し、肺・腎臓・心臓・脾臓・リンパ節の病理学的検索を行った。

4. IL-2R/IL-15R γ 鎖の測定

抗 CD4/CD8 抗体、抗 γ 鎖抗体を用いて二重染色して FACS にて解析した。

C. 研究結果

1. 血中 IL-15

図 a に示すように、PAN、SSc、PM/DM で、正常人に比し有意に増加していた。また、病態との関連では図 b に示すように血管炎を伴った DM や PAN や HPS・IP を併発した症例では正常人と比し、有意に増加していた。このように、IL-15 は特定の疾患というよりは一部の病態に関与していた。この IL-15 が高値を示した IP・HPS・血管炎はまさに前述のように、未だに課題として残っている難治性の病態である。そこで、この高値例の予後を生存率で検討してみた。その結果、表 1 に示すように、IL-15 高値例は生存率が低く予後が不良であった。この高値で死亡した 9 例のうち臨床経過のはっきりした 8 例のデータを解析すると、表 2 に示すようにほとんどが IP・肺出血等の原疾患に伴う重篤な肺病変ややはり原疾患と関連した腸穿孔や多臓器不全で死亡していた。このうち 5 例は剖検が行われたが、表 2 に示すように 4 例で Diffuse Alveolar Damage (DAD) を認めた。このように IL-15 高値例では重篤な臓器病変で死亡する傾向が認められた。この関連の背景には IL-15 による異常活性化 T 細胞の動員がある可能性が示唆されたため、以下の実験を行った。

2. モデルマウスへの IL-15 投与実験

IP を起すモデルマウスはいくつかあるが、膠原病及び血管病変も合併するという観点から、MRL マウスが選ばれた。前述の方法で投与実験を行い、未だ各群 1 匹ずつのデータしか出ていないが、特に高用量群では腎臓での尿細管壊死・肺での胞隔の破壊らしき所見が見られ、現在追試中である。

3. γ 鎖陽性 T 細胞

IL-15 で T 細胞が活性化する場合は当然、IL-15R を介する。IL-15R は IL-2R と γ 鎖を共有す

るが、現在 IL-15R の抗体がないことから、今回は手に入る IL-2R/IL-15R γ 鎖に対する抗体を用いて、IL-15R の発現を、IL-15 高値の症例が多く見られた IP で検討してみた。表 3 に示すように、まだ例数は少ないが、IP のある症例で CD4 陽性・CD8 陽性細胞とも γ 鎖陽性細胞の比率が高値であった。

D. 考察

膠原病の長期予後を左右する病態としては難治性の病態がまず挙げられる。膠原病では種々の免疫異常が報告されているが、これまで難治性の病態に特異的な因子はなかった。今回、検討した IL-15 は全ての病態ではないものの未だに予後が不良な難治性病態である血管炎・IP・HPS との関連が見出された。特に注目されるのは IL-15 高値例で死亡率が高く、生命予後に密接に関っていた点である。この背景を臨床データならびに剖検所見で検討してみると肺の DAD 等、重篤な臓器病変が生命予後を左右していた。このことは IL-15 が Vivo で異常な T 細胞の活性化を起すことを介して臓器障害を来している可能性がある。これを確認するために、IP の症例で IL-15R に含まれる γ 鎖の発現を T 細胞で見ると亢進していた。IL-15 は T 細胞が Activation Induced Cell Death (AICD) に対して抵抗性を得ることにより、異常活性化を起すと言われるが、今後はこの機能を実証するために、 γ 鎖を高発現している症例の T 細胞に IL-15 を In Vitro で添加して、AICD 抵抗性が得られるかどうか、検討していく予定である。一方、IL-15 が臓器障害に結びつくかどうかは動物実験で検討しなくてはならない。IL-15 が IP のある症例で高いことに目をつけ、IP を併発する膠原病モデルマウスである MRL マウスに IL-15 を投与した。また、例数が少ないため結論は見出せないが、高用量投与例で尿細管壊死・胞隔の破壊らしき所見が得られたことは、IL-15 が臓器障害に関っている可能性を示唆している。今後、条件を色々変え、例数を増やして追試していき、かつ T 細胞等の免疫担当細胞の動態も解析していく予定である。

いずれにしろ、IL-15 が死亡例で高値を示した結果は難治性病態を合併する症例の予後の指標

として有用なことが示唆された。

E. 結論

1. IL-15 は IP・HPS・血管炎のある症例で高値を示した。
2. IL-15 高値例では死亡率が高かった。
3. IL-15 高値で死亡した症例では剖検で DAD が高頻度に認められた。
4. IP 症例では IL-15R に含まれる γ 鎖の発現が T 細胞で高い傾向を認められた。
5. MRL マウスで IL-15 を投与すると腎臓の尿細管・肺の胞隔に破壊される傾向が見られた。

F. 健康危険情報

特になし

表1 IL-15 と生存率

生存率 (%)	IL-15		有意差
	> 5 pg/ml	< 5 pg/ml	
	55 (11/20)	95.8 (91/95)	P<0.001

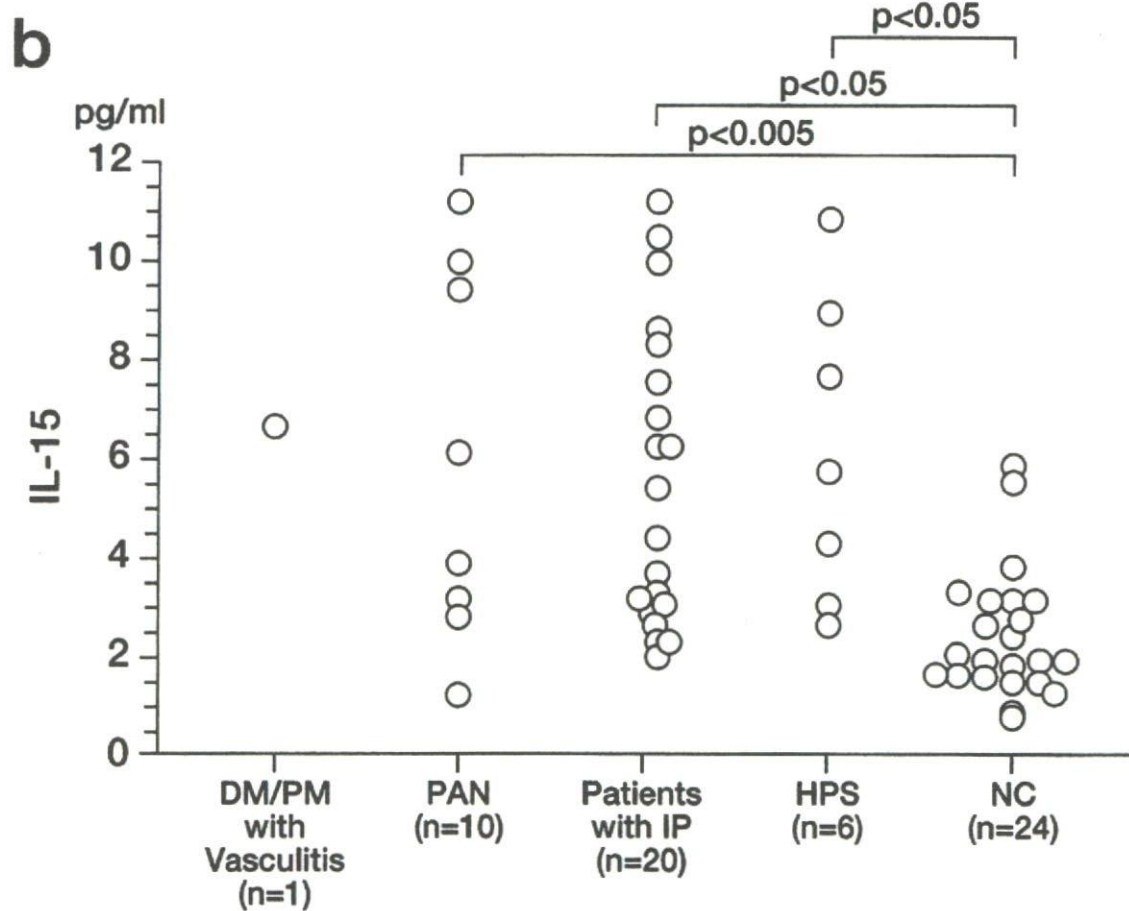
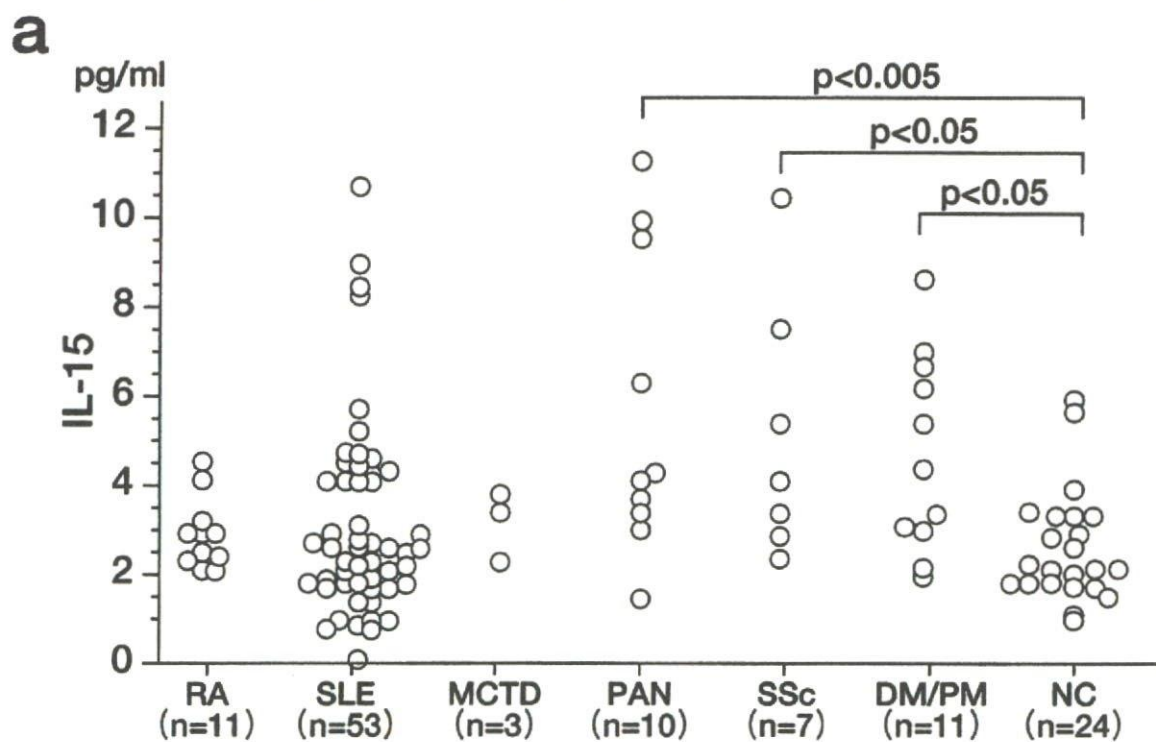
表2 IL-15 高値で死亡した症例のデータ

症例	名前	IL-15	疾患	臨床病態	剖検所見
1	KA	10.71	SLE	HPS→MOF	/
2	AK	8.33	SLE	IP・肺出血	肺出血・DAD
3	UM	6.25	IP	DAD?	/
4	KR	6.76	DM	腸穿孔	血管炎
5	OT	10.53	DM	IP	DAD
6	SK	9.5	MPN	呼吸不全	DAD
7	WC	6.25	MPN	IP	/
8	TY	10.0	MPN	IP	DAD

表3 IP 症例の IL-2/IL-15R γ 鎖陽性細胞

	IP (+) (n=4)	IP (-) (n=3)	NC (n=3)
γ 鎖+/CD4+ (%)	16.79 \pm 14.02	11.56 \pm 13.42	14.33 \pm 7.31
γ 鎖+/CD8+ (%)	6.39 \pm 5.13	3.90 \pm 2.18	4.77 \pm 4.39

図 各種膠原病の血中 IL-15



臓器障害性抗 DNA 抗体の惹起因子の研究

佐々木毅(東北大学大学院医学系研究科免疫・血液病制御学)
平林泰彦(東北大学大学院医学系研究科免疫・血液病制御学)
藤井博司(東北大学大学院医学系研究科免疫・血液病制御学)

研究要旨

臓器障害性抗 DNA 抗体を惹起する因子の研究は SLE 発症の解明、原因療法開発に直結する可能性を持つ。本邦の WHOIV型ループス腎炎に共通して発現するイデオタイプを有するヒトモノクロナル抗 DNA 抗体 O-81 をプローブとして、SLE 例 cDNA ライブラリーの発現系を用いて、O-81 と結合しうる因子(蛋白)を追求した。

A.研究目的

自己抗体は多くの自己免疫疾患においてその病変形成に主たる役割りを担うとされている。従って臓器障害性自己抗体の発現機序を明らかにする事は自己免疫病の本態の理解、発症機序の解明に有用である共に、原因療法の開発に直結する可能性を期待する。代表的な自己免疫疾患である全身性エリテマトーデス SLE では抗 DNA 抗体がループス腎炎の主因とされている。我々はヒトモノクロナル抗 DNA 抗体産生クローン(O-81)を樹立してきた。O-81 抗体でのイデオタイプは WHO の IV 型を呈する本邦の活動性ループス腎炎の腎糸球体、血中免疫複合体に表現される。すなわち、O-81 はループス腎炎での臓器障害性抗 DNA 抗体とみなされるので、これをプローブとして抗 DNA 抗体に反応する SLE リンパ球特有の抗原があるかを追及することとした。

B.方法

(1) 細胞培養と抗体精製

活動性ループス腎炎患者の末梢血リンパ球由来ヒト IgM 型抗 DNA 抗体産生クローン O-81 (Sasaki, T., F. Endo, M. Mikami, Y. Sekiguchi, K. Tada, Y. Ono, N. Ishida and Y. Yoshinaga, 1984. Establishment of human monoclonal anti-DNA producing cell lines. J. Immunol. Methods 72:156.)を、20% 胎児ウシ血清、200 mM L-グルタミン、100 U/ml ペニシリン、100 mg/ml ストレプトマイシン含有 RPMI1640 培地を用いて培養した。培養上清からプロテイン L (Pierce)カラムを用いて IgM 型抗 DNA 抗体 O81 を精製した。

(2) O-81 単鎖抗体(O81scFv)の作成

既に pUC19 ベクターにクローニングしてある O-81 クローンの V_H および V_K 遺伝子を用いた(O-81V_HpUC19 および O-81V_KpUC19) (Hirabayashi, Y, Y. Munakata, Y. Sasaki, T. Sano. 1992. Variable regions of a human anti-DNA antibody O-81 possessing lupus nephritis -

associated idotype Nucl. Acid. Res. 20:2601)まず、O81VKpUC19 を基質として O-81KFR1HindNot(5'-G AAAAGCTTGC GGCCGCTG ATGTTGTGATGACTCAG-3')O81KFR4linkerBam(5'-ACCGGATCCTCCACCACCACTTCCACCTCCACCT CGTTAATCTCCAGTCGTG-3')の二つのプライマーを用いて PCR 法にて V_K 遺伝子を増幅した。増幅された DNA 断片を制限酵素 HindIII と BamHI で切断し、これを PinPoint.Xa-1 vector (Promega) のマルチクローニングサイト(MCS)の同じ制限酵素部位に挿入した(O81VKPinPointXa1)。次に、O-81V_HpUC19V_H を基質として、O-81HFR1linkerBgl(5'-GGAAGATCTGGTGGAGGT GGATCAGAGGTGCAGCTGGTGGAG-3' と O-81HFR4Bam(5'-GTTGGATCCTTATGAGGAG AC GGTGACCAG-3')の二つのプライマーを用いて PCR 法にて O-81 V_H 遺伝子を増幅した。増幅された DNA 断片を制限酵素 BglIII と BamHI I で切断し、O-81VKPinPointXa1 の BamHI サイトに挿入した。(O-81scFvPinPointXa1)。この O-81scFvPinPointXa1 にて大腸菌 JM109 株を形質転換し、LB 培地にて大量培養した。PinPoint. Xa Protein Purification System (Promega)を用いて産生された O-81scFv を精製した。

(3) cDNA ライブラリー作成と大腸菌を用いたツウハイブリッド法(図2)

O-81scFvPinPointXa1 を制限酵素 NotI と BamHI にて切断し、BacterioMatch. Two-Hybrid System (Stratagene)の pBT ベクターの MCS の同じ制限酵素部位に挿入した(O-81scFvpBT)。また、同システムの pTRG ベクターに SfiI サイトを導入したものを作成した(pTRG-SfiI)。

活動性ループス腎炎患者より同意を得た上で末梢血を採取し、Ficoll-Paque. Plus (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて単核球を分離した。これより Micro Fast Track mRNA isolation kit (Invitrogen)を用いて mRNA を調製した。この mRNA を基質として SMART. cDNA library construction kit

(Clontech) を用いプロトコールに従って double-strand cDNA (ds cDNA) を調製した。この ds cDNA を制限酵素 SfiI で切断し、pTRG-SfiI ベクターの SfiI サイトに挿入したのち、XL1-Blue MRF Kan Library Pack Competent 大腸菌株を形質転換した。これを NZY 培地で培養後、プラスミド DNA を抽出し cDNA ライブラリーを作成した。この cDNA ライブラリーと O-81scFvpBT とを同時に BacterioMatch two-hybrid system reporter 大腸菌株に加えて形質転換し、BacterioMatch. Two-Hybrid System のプロトコールに従い O-81scFvpBT に結合する可能性のあるクローンのスクリーニングを行った。

(4) GST 融合リコンビナント蛋白の作成 大腸菌 GST 融合蛋白発現 pGEX6P1 ベクター (Amersham Pharmacia Biotech) に SfiI サイトを導入した。3つの読み枠に対応するよう 3 種類作成した (pGEX6P1SfiI-1, -2, -3)。

ツーハイブリッド法で得られたクローンよりインサートの入った pTRG ベクターを分離し、制限酵素 SfiI で切断しインサート DNA を精製した。これを読み枠の一致する pGEX6P1SfiI-2 ベクターに挿入し、大腸菌 BL21 株を形質転換した。プロトコールに従って融合蛋白を発現させ、B-PER bacterial protein extraction reagent (Pierce) を用いて大腸菌蛋白を抽出し、さらに、GST purification module (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて精製した。

(5) ELISA

各抗原を Immulon 2 プレート (Dynatech) に一晩 4℃ で結合した。次に 1% ウシ血清アルブミン含有リン酸緩衝液にてブロッキングを行った後、O-81 抗体もしくは O-81 単鎖抗体を反応させた。ついで O-81 抗体はペルオキシダーゼ結合抗ヒト IgM 抗体、O-81 単鎖抗体はペルオキシダーゼ結合ストレプトアビジンにて検出した。

C. 結果

(1) O-81scFv を大腸菌の PinPoint 蛋白発現システムを用いて作成した。O-81scFv は ssDNA およびマウスモノクローナル抗 O-81 イディオタイプ抗体 D1E2 への結合を示し、抗原結合部位およびイディオタイプはオリジナルの O-81 抗体を良く反映していると考えられた (図 1)。

(2) 活動性ループス腎炎患者の末梢血白血球由来の cDNA ライブラリーを pTRGSfiI ベクター上に作成し、O-81scFvpBT に結合する蛋白をコードする cDNA を BacterioMatch. Two-Hybrid System を用いてスクリーニングを行って 16 個のクローンを得た (図 2)。更に、これら 16 個のクローンより cDNA の入った pTRG プラスミドを分離し、再度各々を O-81scFvpBT と同時に BacterioMatch two-hybrid system reporter 大腸菌株に加えて形質転換した。カルベニシリン含有 NZY プレートと X-gal 含有 NZY プレートの両方に生育する 1 つのクローンを得た (081ligand#10)。この cDNA の塩基配列を決定し、National Center for Biotechnology Information (NCBI) のデータベースで BLAST サーチを行ったところ、Homosapienshomocysteine -

inducible, endoplasmic reticulum stress-inducible protein (Herp) 遺伝子 (NCBI#AB034990) の一部に一致した (図 3)。cDNA はこの遺伝子の主に exon6 に相当したが、スプライシングが異なるようであり、新規の isoform の可能性が示唆された。(図 3、4)

(3) この cDNA を大腸菌の GSTTM 蛋白発現ベクターに組み込み、リコンビナント蛋白を作成した。これを抗原として、オリジナルの O81 抗体を用いて ELISA を行ったところ結合が示唆された。(図 5)

D. 考察

本研究は SLE の発症期において抗 DNA 抗体を惹起する因子は DNA ではなく、他の要因であろうとの仮説に基づき始められた。この根拠は、DNA 自身は免疫原性が極めて低いこと、DNA を含む複合体 (ヌクレオソーム他) としても SLE 免疫複合体の抗 DNA 抗体解析などからみて説明し難いことなどによる。我々の成績は仮説の様に、*in vitro* では poplyspecificity を示さない抗 DNA 抗体である O-81 抗体も SLE cDNA ライブラリーより発現した蛋白とは反応しうることを示す。このような反応性をしめすペプチドが他にも認められるのでこれらをより追求する事により本研究の目的に近づくことが可能になると思われる。

E. 結論

SLE での臓器障害性自己抗体は DNA 以外の因子とも反応しうる。本研究を深めることによりヒト自己抗体の発現機序が明らかとしうる可能性がある。

G. 研究発表

(1) 論文発表

1. F. Yi, K. K. Ishii, Y. Munakata, T. Saitoh, M. Kaku, **T. Sasaki**: Regulation of tumor necrosis factor alpha promoter by human parvovirus B19 NS1 through activation of AP-1 and AP-2. *J. Virology*, 76: 5395-5403, 2002
2. M. Takahashi, T. Funato, Y. Suzuki, H. Fujii, K. Kumuraishi, M. Kaku, and **T. Sasaki**: Chemically modified Ribozyme Targeting TNF- α mRNA regulates TNF- α and IL-6 Synthesis in Synovial Fibroblasts of patients with Rheumatoid Arthritis. *J. Clin. Immunol* 22: 228-236, 2002
3. H. Harigae, R. Ichinohasama, I. Miura, J. Kameoka, K. Meguro, K. Miyamura, O. Sasaki, I. Ishikawa, S. Takahashi, M. Kaku, and **T. Sasaki**: Primary marginal zone lymphoma of the thymus accompanied by chromosomal anomaly, 46X, dup(X)(p11p22). *Cancer Genetics cytogenetics* 133: 142-147, 2002
4. Y. Minami, **T. Sasaki**, Y. Arai, T. Hosokawa, S. Hisamichi, and The Miyagi Lupus Study Group: Psychological Profiles and Health Status in

- Japanese Female Patients with Systemic Lupus Erythematosus: The Miyagi Lupus Collaborative Study. Journal of Epidemiology 12: 55-63, 2002
5. T. Funato, S. Uehara, M. Takahashi, K. Kozawa, J. Satoh, **T. Sasaki**, and M. Kaku: Microsatellite instability in gonadal tumors of XY pure gonadal dysgenesis patients. Int J Gynecol Cancer. 12: 192-197, 2002
6. Y. Minami, **T. Sasaki**, Y. Arai, T. Hosokawa, S. Hisamichi, and the Miyagi Lupus Study Group: Psychological profiles and health status in Japanese female patients with systemic lupus erythematosus: the Miyagi Lupus Collaborative Study. J. Epidemiology. 12: 55-63, 2002
7. S. Fujimaki, T. Funato, H. Harigae, J. Fujiwara, J. Kameoka, K. Meguro, M. Kaku, and **T. Sasaki**: Quantitative analysis of a MDRI transcript for prediction of drug resistance in acute leukemia. Clinical Chemistry. 48: 811-817, 2002
8. O. Sasaki, K. Meguro, Y. Tohmiya, T. Funato, Shibahara S, and Sasaki T. Nucleotide alteration of retinoblastoma protein-interacting zinc finger gene, RIZ, in human leukemia. Tohoku J Exp Med. 196, 193-201, 2002
9. M. Okuda, J. Nomura, H. Takeno, J. Kameoka, and **T. Sasaki**. CD546 positive intestinal T-Cell lymphoma: treatment with high dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation. Internal Medicine. 41: 734-737, 2002
10. T. Saito, Y. Munakata, Y. Fi, K. Ishii, H. Fujii, E. Miyagawa, **T. Sasaki**: Evaluation of anti-parvovirus B19 neutralizing activity by quantitative polymerase chain-reaction-based assay. J. Virol. Meth. 107: 81-87, 2003
11. Y. Hirabayashi, S. Saito, M. Takeshita, T. Kodera, Y. Munakata, T. Ishii, H. Fujii, M. Shimura, and **T. Sasaki**. Mononeuritis multiplex, protein-losing gastroenteropathy and chroidopathy seen together in a case systemic lupus erythematosus. Modern Rheumatol. In press, 2003
12. Y. Minami, **T. Sasaki**, S. Hisamichi. Dietary factors in relation to clinical manifestations of systemic lupus erythematosus. J. Rheum. In press, 2003
13. N. Takasawa, Y. Munakata, Y. Takahashi, M. Takahashi, Y. Fu, T. Node, M. Nose, **T. Sasaki**. Human parvovirus B19-transgenic mice become susceptible to polyarthritis. J. Clinical Investigation. In press, 2003
14. H. Harigae, O. Nakajima, N. Suwabe, H. Yokoyama, K. Furuyama, **T. Sasaki**, M. Kaku, M. Yamamoto, S. Sassa. Aberrant iron accumulation and oxidized status of erythroid-specific δ -aminolevulinate synthase (ALAS2)-deficient definitive erythroblasts. Blood. 101: 1188-1193, 2003
15. **佐々木毅**
自己免疫疾患治療最近の進歩
日本医事新報 4100, 2002
16. **佐々木毅**
CRP 検査の臨床的意義—適応と限界
臨床検査 46: 967-972, 2002
17. **佐々木毅**
リウマチ性疾患と感染性因子
リウマチ科 27: 46-52, 2002
18. **佐々木毅**
リウマチ性疾患とヒトパルボウイルス B19
リウマチ科 27: 247-254, 2002
19. **佐々木毅**
第一線の実地医家のための高齢者医療実践ガイド
免疫学的検査 19: 229-234, 2002
20. **佐々木毅**
LE 細胞現象
日本内科学会雑誌 91: 41-45, 2002
- B) 学会発表
- 1) **平林泰彦**
F3-11 脳幹部に繰り返し病変を生じた CNS ループスの一例
第 12 回日本リウマチ学会 北海道・東北支部学術集会 札幌 9/22-23, 2002
- 2) **平林泰彦**
抗 DNA 抗体の起源及びその特異的制御
第 46 回リウマチ学会・学術集会
神戸 4・23, 2002
- 3) **小寺隆雄**、宗像靖彦、**藤井博司**、石井智徳、竹下美紀、**佐々木毅**
血管内皮細胞表面へパリン様五単糖に対する自己抗体による血栓症発現機序
日本免疫学会総会・学術集会 東京 12/4-6, 2002
- 4) 宗像靖彦、石井恵子、斉藤貴子、傅翼、**小寺隆雄**、**佐々木毅**
関節リウマチ滑膜細胞のサイトカイン産生とヒトパルボウイルス B19
日本免疫学会総会・学術集会 東京 12/4-6, 2002
- 5) 斉藤貴子、宗像靖彦、小寺隆雄、石井恵子、石井智徳、**平林泰彦**、**佐々木毅**
関節リウマチ例における抗ヒトパルボウイルス B19 抗体中和活性の低下
日本免疫学会総会・学術集会 東京 12/4-6, 2002
- 6) 石井智徳、**平林泰彦**、宗像靖彦、小寺隆雄、竹下美紀、**藤井博司**、北川良親、**佐々木毅**
抗核酸抗体 Fc-Fv 遺伝子の T 細胞への導入
日本免疫学会総会・学術集会 東京 12/4-6, 2002
- 7) 斉藤貴子、宗像靖彦、傅翼、石井恵子、

- 佐々木毅**
ヒトパルボウイルス B19 に対する未知のレセプター 第50回日本ウイルス学会学術集会・総会 札幌 10/16-18, 2002
- 8) 宗像靖彦、加藤一郎、斉藤貴子、小寺隆雄、傅翼、石井恵子、**佐々木毅**
ヒトパルボウイルス B19 の単球系細胞への感染 第50回日本ウイルス学会学術集会・総会 札幌 10/16-18, 2002
- 9) 石井恵子、傅翼、宗像靖彦、斉藤貴子、**佐々木毅** ヒトパルボウイルス B19NS-1 をターゲットとする DNA enzyme による TNF-alpha の発現制御 第50回日本ウイルス学会学術集会・総会 札幌 10/16-18, 2002
- 10) 小寺隆雄、斉藤真一郎、**佐々木毅**
強皮症における Fibrillin-1(Fbn1)遺伝子多型性の解析 第46回日本リウマチ学会総会・学術集会 神戸 4/22-24, 2002
- 11) 斉藤芳彦、大久良晴、**佐々木毅**
自己抗体検査の問題点—抗DNA抗体と加齢— 第46回日本リウマチ学会総会・学術集会 神戸 4/22-24, 2002
- 12) 宗像靖彦、**佐々木毅**
ヒトパルボウイルス B19 持続感染と慢性関節リウマチ・宿主における中和抗体産生能 第46回日本リウマチ学会総会・学術集会 神戸 4/22-24, 2002
- 13) 加藤一郎、宗像靖彦、渡辺美紀、石井智徳、**平林泰彦、佐々木毅**
リウマチ症状を呈した遷延性ヒトパルボウイルス B19 感染症の一例 第46回日本リウマチ学会総会・学術集会 神戸 4/22-24, 2002
- 14) 石井智徳、**平林泰彦**、竹下美紀、小寺隆雄、加藤一郎、**佐々木毅**
原発性自己免疫蛋白漏出胃腸症の1症例 第46回日本リウマチ学会総会・学術集会 神戸 4/22-24, 2002
- 15) 張替秀郎、中島修、古山和道、横山寿行、**佐々木毅**、山本雅之、佐々茂
赤血球アミルブレリン酸合成酵素欠損赤芽球における鉄代謝異常 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 16) 亀岡淳一、山田実名美、横山寿行、木村朋文、佐々木治、張替秀郎、宮村耕一、**佐々木毅**
ヒト及びマウス骨髄間質細胞における leptin 発現の検討 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 17) 木村朋文、Stuart Scott, 宮村耕一、亀岡淳一、一迫玲、**佐々木毅**、John Decoteau
TGF-βによる細胞周期停止経路を構成する要素のメチル化(ヒト T-LBL/ALL における検討) 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 18) 山田実名美、佐々木治、張替秀郎、亀岡淳一、宮村耕一、**佐々木毅**、横澤敏也、玉置広哉
白血病の分子モニターにおける定量的 PCR 法の標準化 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 19) 阿部正理、亀岡淳一、山田実名美、佐々木治、宮村耕一、張替秀郎、**佐々木毅**
Trisomy4 と Trisomy10 を同時に認めた CD56 陽性 AML(M2)TLD の一例 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 20) 木幡桂、亀岡淳一、七島勉、山田実名美、佐々木治、宮村耕一、張替秀郎、**佐々木毅**
Cyclosporine A(CYA)投与後PNHクローンが顕在化し、CYA 減量中止後にその著減を認めた再生不良性貧血の一例 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 21) 井根省二、山田実名美、佐々木治、張替秀郎、亀岡淳一、宮村耕一、目黒邦昭、**佐々木毅**
同種腎移植後に同種骨髄移植を行った CML の一例 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 22) 関正則、亀岡淳一、木村朋文、横山寿行、山田実名美、佐々木治、石澤賢一、張替秀郎、宮村耕一、**佐々木毅**
CD4+CD8+T 細胞性慢性リンパ性白血病(T-CLL)の2例 横浜 第64回日本血液学会総会・第44回日本臨床血液学会総会 9/12-15, 2002
- 23) Y.MUnakata, T.Saito, Y.Fu, K.Ishii, **T.Sasaki**
Neutralizing activity to Human Parvovirus B19 in Sera of Patients with B19 persistent Infection. U.S.A. Annual Scientific Meeting, 10/24-29, 2002
- 24) Ishii, Y.Munataka, T.Kodera, **Y.Hirabayashi**, M.Takeshita, T.Koiwa, **T.Sasaki**.
Ufulness of phased tracking ultrasonic method to assess inflammatory activity wall in takayasu disease. U.S.A. Annual Scientific Meeting, 10/24-29, 2002
- 25) T.Kodera, M.Takeshima, T.Saito, S.Shibata, Y.Munakata, **T.Sasaki**.
Anti-Vascular pentasaccharide autoantibody enhances the expression of CD62 and adhesion activity of endothelial cells. U.S.A. Annual Scientific Meeting, 10/24-29, 2002

全身性自己免疫疾患における自己抗体の網羅的検索に関する研究

加藤 智啓(聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター生体機能制御部門)

研究要旨

炎症性筋疾患、全身性エリテマトーデスなどの全身性自己免疫疾患ではさまざまな自己抗体が報告されているがその網羅的包括的な把握は十分でない。そのため、病因病態に關与する自己抗体・自己抗原を網羅的検索が必要である。我々はプロテオミクスの手法により炎症性筋疾患、全身性エリテマトーデス(SLE)、ベーチェット病などにおける自己抗体の網羅的な検索を試みた。これにより複数の自己抗原が同時に検出され、また、mass fingerprinting 法により、cofilin などの新規自己抗原を同定した。cofilin を組換え蛋白として作成し、各種膠原病患者での陽性率を検討した。陽性率はSLE、慢性関節リウマチ、ベーチェット病、および炎症性筋疾患において、それぞれ6%、14%、13%、および24%であった。上記のアプローチは自己抗体の包括的な把握に有用であると考えられた。今回検出した自己抗原 cofilin はアクチンの重合・脱重合に関わる分子であり、細胞の遊走能や接着能に影響すると關与すると報告されている。抗 cofilin 自己抗体のそれらに対する影響と臨床的意義の検討と検出した他の自己抗原の同定が今後の課題である。

A.研究目的

炎症性筋疾患、全身性エリテマトーデスなどの全身性自己免疫疾患ではさまざまな自己抗体が報告されているがその網羅的包括的な把握は十分でない。そのため、病因病態に關与する自己抗体・自己抗原を網羅的検索が必要である。しかしながら、これまでのcDNAライブラリーからの血清(抗体)によるクローニング法では、高親和性、高力価の自己抗体に対する抗原のみが検出されやすい傾向にあり、網羅的検索には不向きである。今回我々は2次元電気泳動と質量分析を組み合わせたプロテオミクスを用いて、自己抗原・自己抗原系の網羅的解析を行った。

B.研究方法

健常者末梢血よりリンパ球を比重遠心法で分離し、さらに尿素、チオ尿素、CHAPS を含む溶液で蛋白を抽出した。これを等電点電気泳動および分子量によるSDS-PAGEを組み合わせた2次元電

気泳動法で分離展開した。その後、ニトロセルロース膜に転写し、全身性自己免疫疾患患者血清を用いてエウスタンプロットを行った。血清に反応した蛋白スポット(自己抗原スポット)の蛋白を同定するために、同様に2次元電気泳動法で展開し、クマシー染色したゲルから、陽性蛋白スポットに一致するスポットを切り出して回収し、トリプシン消化後、ゲルから抽出した。これらの消化ペプチドの質量を、飛行時間型質量分析器を用いたmass-fingerprinting 法により決定し、マスコット(ソフトウェア)による蛋白データベース検索から質量の一致する候補蛋白を選定した。候補蛋白は、報告されている mRNA 配列から、PCRを用いてcDNA を増幅、クローニングし、マルトース結合蛋白(MBP)との融合蛋白として大腸菌で発現させ、精製した。

これを用いて抗原性の確認とともに、エウスタンプロット法で多数の全身性自己免疫疾患患者血清を検索した。

C.研究結果

2次元電気泳動後のエウスタンプロットでは数十の陽性蛋白スポットが検出された。順次、mass-fingerprinting を行った結果、現在まで、約10個の蛋白が同定された。その中で特にcofilinに着目し、組換え蛋白を作成した。Cofilinは融合蛋白(cofilin-MBP)として銃分量発現精製された。cofilin-MBPを用いたエウスタンプロット法では、全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、ベーチェット病、炎症性筋疾患患者において、それぞれ、6%、14%、13%、24%が抗cofilin自己抗体陽性であった。健常人では陽性はまれであった。

D.考察

上記のアプローチは自己抗体の包括的な把握に有用であると考えられた。今回検出した自己抗原のひとつcofilinはアクチンの重合・脱重合に関わる分子であり、細胞の遊走能や接着能に影響すると関与すると報告されている。抗cofilin自己抗体のそれらに対する影響と臨床的意義の検討が個別的課題のひとつである。

E.結論

全身性自己免疫疾患の自己抗体・自己免疫を包括的に把握する本方法は病態解明に有意義である。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

(1) Okamoto N, Yotsuyanagi H, Ooka S, Matsui T, Kurokawa M, Suzuki M, Iino S, Nishioka K, Kato T. Autoantibodies to CD69 in patients with chronic hepatitis type C; a Candidate marker for predicting response to the IFN therapy. Intervirology 46:56-65, 2003

(2) Tsuruha J, Masuko-Hongo K, Kato T, Sakata M, Nakamura H, Sekine T, Takigawa M, Nishioka K. Autoimmunity against YKL-39, a human cartilage-derived protein in patients with

2. 学会発表

なし

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

スタチン類の自己免疫疾患に対する治療に関する研究

簗田 清次(自治医科大学内科学講座アレルギー膠原病学講座)

研究要旨

スタチン類の多面的効果としての抗リウマチ作用の機序をアポトーシス誘導作用の観点から、今回は *in vivo* での T 細胞と *in vitro* での培養滑膜細胞に対するアポトーシス誘導作用の有無を解析すること目的とした。脂溶性スタチンのフルバスタチンは *in vivo* で正常マウス胸腺細胞にアポトーシス誘導能を示し、メバロン酸経路依存性であった。また培養滑膜細胞に対してもアポトーシス誘導能を示し、protein geranylgeranylation 阻害に基づくことが強く示唆された。

A.研究目的

我々は自己免疫疾患に対する新たな治療薬の探究としてリンパ球にアポトーシス誘導作用を持つ FTY720 に着目し、ループモデルマウス(MRL/lpr)に投与したところ、治療効果を示し新しい治療法となりうることを報告した(J Rheumatol. 2002;29:707-16)。

スタチン類は HMG-CoA 還元酵素抑制によるコレステロール低下作用以外にも様々な多面的効果(pleiotropic effect)を持ち、近年、免疫抑制作用を有することが注目されている。その機序として MHC class II の発現低下や LFA-1 と ICAM-1 結合阻害を介する副刺激シグナルの抑制に基づくことが報告されている。我々はスタチン類の免疫抑制作用の機序をアポトーシス誘導作用の観点から研究を進め、脂溶性スタチンのフルバスタチンは活性化 T 細胞に対して *in vitro* でアポトーシス誘導能を有し、その機序として protein farnesylation 阻害に基づくことを見い出した。今回はスタチン類の *in vivo* でのアポトーシス誘導作用の有無を明らかにすることを目的とした。さらに *in vitro* での培養滑膜細胞に対するアポトーシス誘導作用も検討した。

B.研究方法

スタチン類のアポトーシス誘導作用の検討は正常 BALB/c マウス胸腺細胞と関節リウマチ患者由来培養滑膜細胞を用いた。アポトーシスは propidium iodode を用いた DNA loss の定量と FITC 標識抗 Annexin-V を用いて、フローサイトメーターにて解析した。アポトーシスのシグナル伝達機構の解析は DiOC₆(3)を用いたミトコンドリア経路や抗 active caspase-3 抗体を用いてフローサイトメーターで行った。メバロン酸経路の解析は mevalonate、squalene、farnesyl pyrophosphate、geranylgeranyl pyrophosphate 等の添加により(add-back experiments)、アポトーシスが抑制できるか否かで検討した。

C.研究結果

1) フルバスタチン 2 mg を正常マウスに腹腔内投与したところ、48 時間後の胸腺はコントロールと比較して細胞数が約 1/10 に減少し、CD4⁺CD8⁺ double positive 細胞の減少(25.0±4.9% vs 86.4±2.0%)と Annexin V 陽性細胞の増加(8.7±2.0% vs 2.1±1.0%)とが観察された。水溶性スタチンのプ

ラバスタチン投与群はコントロール群と差がなかった。さらにフルバスタチン誘導性アポトーシスは mevalonate 2mg 同時投与で抑制された。2) フルバスタチンは濃度(1-10⁻⁶ M)、時間(24-120h)依存性に培養 RA 滑膜細胞に対してアポトーシスを誘導した。そのアポトーシスはミトコンドリア(DiOC₆(3)^{low}: 膜電位(Ψ_m)低下)経路を介し、caspase 依存性(active-caspase3 陽性)であり、mevalonate、geranylgeranyl pyrophosphate 添加で抑制された。さらに選択的 geranylgeranyl transferase 阻害剤(GGTI-298)は培養滑膜細胞に対して強いアポトーシス誘導能を示した。

D. 考察

今後はループスモデルマウス(MRL/lpr, NZB/WF1)に対するスタチン類の投与実験を遂行する予定である。副腎皮質ステロイド薬で治療中のリウマチ膠原病症例は高脂血症や動脈硬化を合併しやすく、予後に重大な影響を及ぼすことから、臨床的にスタチン類を併用することが多い。スタチン類のアポトーシス誘導作用に基づく免疫抑制作用の解析により、スタチン類を自己免疫疾患に対する補助的な免疫調整薬として使用を試みる根拠となりうる。

E. 結論

フルバスタチンは *in vivo* で正常マウス胸腺細胞にアポトーシス誘導能を示し、メバロン酸経路依存性であった。また培養滑膜細胞に対してもアポトーシス誘導能を示し、protein geranylgeranylation 阻害に基づくことが強く示唆された。

F. 健康危険情報

特記すべきことはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okazaki, H., Hirata, D., Kamimura, T., Sato, H., Iwamoto, M., Yoshio, T., Masuyama, J., Fujimura, A., Kobayashi, E., Kano, S., Minota, S. : Effects of FTY720 in MRL-lpr/lpr mice for a therapeutic potential on systemic lupus

- erythematosis. J Rheumatol. 29:707-716, 2002.
2. Okazaki, H., Kakurai, M., Hirata, D., Sato, H., Kamimura, T., Onai, N., Matsushima, K., Nakagawa, H., Kano, S., Minota, S. : Characterization of chemokine receptor expression and cytokine production in circulating CD4+ T cells from patients with atopic dermatitis: Up-regulation of C-C Chemokine Receptor 4 in atopic dermatitis. Clin Exp Allergy. 32:1236-1242, 2002.

2. 学会発表

1. Okazaki, H., Takahashi, M., Hirata, D., Kano, S., Minota, S.: Apoptosis of activated human T cells by statins through blocking protein farnesylation: A possible mechanism of their newly recognized immunomodulator activities. 26th International Congress of Internal Medicine, Kyoto, Japan, May, 28, 2002.
2. Nagashima, T., Okazaki, H., Hirata, D., Iwamoto, M., Matsuno, H., Kano, S., Minota, S.: Apoptosis of Rheumatoid Synovial Cells by Statins through Blocking Protein-geranylgeranylation: Potential Therapeutics for Rheumatoid Arthritis. American College of Rheumatology, 65th National Meeting, New Orleans, Louisiana, USA, Oct, 26, 2002.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

特記すべきことはない。

2. 実用新案登録

特記すべきことはない。

3. その他

(4) 研究成果の刊行に関する一覧表

別添 6

研究成果の刊行物に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Horita,T.,Tsutsumi,A.,Takeda,T.,Yasuda,S.,Takeuti,R.,Amasaki,Y.,Ichikawa,K.,Atsumi,T.,Koike,T.	Significance of magnetic resonance imaging in diagnosis of nodular regenerative hyperplasia of the liver complicated with systemic lupus erythematosus	Lupus	11	193-196.	2002
Okamoto,T.,Tanaka,S.,Stan.C.A.,Koike,T.,Kas,M.,Makita,Z.,Sawa,Hirofumi,Nagashima,K.	Advanced glycation end products induce angiogenesis in vivo.	Mol Res	3	186-195	2002
Atsumi,T., Koike,T.	Clinical relevance of antiprothrombin antibodies.	Autoimmunity Reviews.	1	49-53	2002
Ieko,M.,Nakabayashi,T.,Takeda,T.,Naitoh,S.,Atsumi,T.,Koike,T.	The inhibition of protein C anticoagulant activity by anti-β2-glycoprotein I(β2GPI)antibodies isolated from patients with antiphospholipid syndrome by chromatography methods.	Mod Rheumatol.	12	44-49.	2002
Matsuura,E.,Kobayashi,K.,Kasahara,J.,Yasuda,T.,Makino,H.,Koike,T.,Shoenfeld,Y.	Anti-β2-glycoprotein I antibodies and atherosclerosis.	Int.Rev.Immunol.	21	51-66	2002
Yasuda,S.,Tsutsumi,A.,Atsumi,T.,Bertolaccini,M.L.,Ichikawa,K.,Khamashta,M.A.,HugesR.V.,Koike,T.	Gene polymorphisms of tissue plasminogen activator and plasminogenactivator inhibitor-1patients with antiphospholipid antibodies.	J.Rheumatol.	29:6.	1192-1197	2002
Koizumi,K.,Haseyama,Y.,Machino,R.,Sato,Y.,Sawada,K.,Koike,T.	The hemophagocytic syndrome in prostate cancer revealed by disseminated carcinomatosis of the bone marrow.	J.Urology.	168	1101-1102	2002
Yamaguchi,M.,Hirayama,F.,Murahashi,H.,Azuma,H.,Sato,N.,Miyazaki,H.,Fukazawa,K.,Sawada,K.,Koike,T.,Ikeda,H.,Ikebuchi,K.	Ex vivo expansion of human UC blood primitive hematopoietic progenitors and transplantable stem cells using human primary BM stromal cells and human AB serum.	Cytherapy.	4:2	109-118.	2002
Tyndall,A.,Koike,T.	High-dose immunoablative therapy with hematopoietic stem cell support in the treatment of severe autoimmune disease: current status and future direction.	Int.Med.	41:8	608-612	2002
Miyoshi,H.,Taguchi,T.,Sugiura,M.,Takeuchi,M.,Yanagisawa,K.,Watanabe,Y.,Miwa,I.,Makita,Z.,Koike,T.	Aminoguanidine pyridoxal adduct is superior to aminoguanidine for preventing diabetic nephropathy in mice.	Horm Metab Res.	34	371-377	2002
Takeuchi,R.,Atsumi,T.,Ieko,M.,Amasaki,Y.,Ichikawa,K.,Koike,T.	Suppressed intrinsic fibrinolytic activity by monoclonal anti-beta2 glycoprotein I antibodies:possible mechanism for thrombosis in patients with antiphospholipid syndrome.	Brit J hematol.	118	781-788	2002
Ambrozic,A.,Avicin,T.,Ichikawa,K.,Kvedar,T.,Matsuura,E.,Hojnik,M.,Atsumi,T.,Rozman,B.,Koike,T.	Anti-β2-glycoprotein I antibodies in children with atopic dermatitis.	Int Immunol.	14	823-830	2002
Tsuzaka T, Onoda N, Yoshimoto K, Zhang L, Pang M, Abe T, and Takeuchi T.	T cell receptor ζ mRNA with an alternatively spliced 3' untranslated region is generated predominantly in the peripheral blood T cells of systemic lupus erythematosus patients	Modern Rheum	12	167-173	2002
Pang M, Setoyama Y, Tsuzaka K, Yoshimoto K, Amano K, Abe T, and Takeuchi T	Defective expression and tyrosine phosphorylation of the T cell receptor zeta chain in peripheral blood T cells from systemic lupus erythematosus patients	Clin Exp Immunol	129	160-169	2002
Takeuchi T, Tsuzaka K, and Abe T.	Altered expression of the T cell receptor-CD3 complex in systemic lupus erythematosus.	Int Rev Immunol		In press	

Tsuzaka K, Fukuhara I, Setoyama Y, Yoshimoto K, Suzuki K, Abe T, and Takeuchi T.	Forced expression of TCR ζ mRNA with alternatively spliced 3' untranslated region found in SLE patients lead to decreased production and cell surface expression of TCR ζ and TCR-CD3 complex	J Immunol		In press	
Higuchi, T., Aiba, Y., Nomura, T., Matsuda, J., Mochida, K., Suzuki, M., Kikutani, H., Honjo, T., Nishioka, K. and Tsubata T.	Cutting Edge: Ectopic expression of CD40 ligand on B cells induces lupus-like autoimmune disease.	J. Immunol.	168	9-12.	2002
Wakabayashi, C., Adachi, T., J Wienands, Tsubata, T.	A distinct Signaling Pathway Used by the IgG-Containing B Cell antigen receptor.	Science.	298	2392-2395	2002
Song J, Ohkura T, Sugimoto M, Mori Y, Inagi R, Yamanishi K, Yoshizaki K, Nishimoto N.	Human interleukin-6 induces human herpesvirus-8 replication in a body-cavity-based lymphoma cell line.	J. Med.	68	404-411.	2002
Okazaki M, Yamada Y, Nishimoto N, Yoshizaki K, Mihara M.	Characterization of anti-mouse IL-6 receptor antibody.	Immunol. Lett.	84	231-240	2002
Mihara M, Nishimoto N, Yoshizaki K, Suzuki T.	Influences of anti-mouse IL-6 receptor antibody on immune responses in mice.	Immunol. Lett.	84	223-229	2002
Choy EH, Isenberg DA, Garrood T, Farrow S, Ioannou Y, Bird H, Cheung N, Williams B, Price R, Yoshizaki K, Nishimoto N, Kishimoto T, Panay GS.	Therapeutic benefit of blocking interleukin-6 activity with an anti-interleukin 6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial.	Arthritis Rheum.	46	3143-3150	2002
Iwamoto M, Nara H, Hirata D, Minota S, Nishimoto N, Yoshizaki K.	Humanized monoclonal anti-interleukin 6 receptor antibody for treatment of intractable adult-onset Still's disease.	Arthritis Rheum.	46	3388-3389	2002
Naka T, Nishimoto N, Kishimoto T.	T. The paradigm of IL-6: from basic science to medicine.	Arthritis Res.	4 suppl.	S233-242	2002
Nishimoto N, Yoshizaki K, Maeda K, Kuritani T, Deguchi H, Sato B, Imai N, Kakehi T, Takagi N, Suemura M, Kishimoto T.	Toxicity, pharmacokinetics, and dose finding study of repetitive treatment with humanized anti-interleukin 6 receptor antibody, MRA, in rheumatoid arthritis - a phase I/II clinical study of MRA for rheumatoid arthritis in Japan-.	J. Rheum.		(in press)	2003
Katsume A, Saito H, Yamada Y, Yorozu K, Ueda O, Akamatsu K, Nishimoto N, Kishimoto T, Yoshizaki K, Ohsugi Y.	Anti-interleukin 6 (IL-6) receptor antibody suppresses Castleman's disease like symptoms emerged in IL-6 transgenic mice.	Cytokine		(in press)	2003
Goya S, Matsuoka H, Mori M, Morishita H, Kida H, Kobashi Y, Kato T, Taguchi Y, Osaki T, Tachibana I, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kawase I, Hayashi S.	Sustained interleukin-6 signaling leads to the development of lymphoid organ-like structures in the lung.	J. Pathol.		(in press)	2003
Nakahara H, Song J, Sugimoto M, Hagihara K, Kishimoto T, Yoshizaki K, Nishimoto N.	Anti-interleukin-6 receptor antibody therapy reduces vascular endothelial growth factor (VEGF) production in rheumatoid arthritis.	Arthritis Rheum.		(in press)	2003
Miyamoto A, Nakayama K, Hirose S, Jiang Y, Abe M, Tsukiyama T, Nagahama H, Ohno S, Hatakeyama S, Nakayama K	Increased proliferation of B cells and auto-immunity in mice lacking protein kinase C δ	Nature	416	865-869	2002
Miura-Shimura Y, Nakamura K, Ohtsuji M, Tomita H, Jiang Y, Abe M, Zhang D, Hamano Y, Tsuda H, Hashimoto H, Nishimura H, Taki S, Shirai T, Hirose S	<i>CIq</i> regulatory region polymorphism down-regulating murine CIq protein levels with linkage to lupus nephritis.	J Immunol	169	1334-1339	2002
Xie Y, Nakamura K, Abe M, Li N, Wen X-S, Jiang Y, Zhang D, Tsurui H, Matsuoka S, Hamano Y, Fujii H, Ono M, Takai T, Shimokawa T, Ra C, Shirai T, Hirose S	Transcriptional regulation of <i>Fcgr2b</i> gene by polymorphic promoter region and its contribution to humoral immune responses	J Immunol	169	4340-4346	2002
Iwai H, Kozono Y, Hirose S, Akiba H, Yagita H, Okumuea K, Kohsaka H, Miyasaka N, Azuma M.	Amelioration of collagen-induced arthritis by brokade of inducible costimulator-b7 homologous protein costimulation.	J Immunol	169	4332-4339	2002
Shirai T, Nishimura H, Jiang Y, Hirose S	Genome screening for susceptibility loci in systemic lupus erythematosus	Am J Pharmacogenomics	2	1-12	2002
Hirose S, Jiang Y, Hamano Y, Nishimura H	Genetic basis of systemic lupus erythematosus	Drugs of Today	38	167-184	2002

Kudo, H., Matsuoka, T., Mitsuya, H., Nishimura, Y. and Matsushita, S.	Cross-linking HLA-DR molecules on Th1 cells induces anergy in association with increased level of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1.	Immunol. Lett.	81	149-155	2002
Ohyama, H., Nishimura, F., Meguro, M., Takashiba, S., Murayama, Y. and Matsushita, S.	Counter-antigen presentation: fibroblasts produce cytokines by signaling through HLA class II molecules without inducing T-cell proliferation.	Cytokine	17	175-181	2002
Sakaguchi, H., Inoue, R., Kaneko, H., Watanabe, M., Suzuki, K., Kato, Z., Matsushita, S. and Kondo, N.	Interaction among HLA-Peptide-TCR Complexes in cow's milk allergy: Significance of HLA and TCR-CDR3 Loops.	Clin. Exp. Allergy	32	762-770	2002
Matsushita, S., Tanaka, Y., Ohyama, H., Matsuoka, T. and Nakashima, T.	Application of combinatorial chemistry for the identification of peptide ligands recognized by T cells.	Recent Research Developments in Immunology	4	361-379	2002
Suzuki, K., Inoue, R., Sakaguchi, H., Aoki, M., Kato, Z., Kaneko, H., Matsushita, S. and Kondo, N.	The correlation between ovomucoid-derived peptides, human leucocyte antigen class II molecules and T cell receptor-complementarity determining region 3 compositions in patients with egg-white allergy.	Clin. Exp. Allergy	32	1223-1230	2002
Matsushita, S., Tanaka, Y., Tabata, H., Matsuoka, T., Ohyama, H. and Nakashima, T.	Combinatorial peptide library for the analysis of antigen recognition by T cells.	Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening	5	539-551	2002
Kohsaka, H., Nasu, K., Matsushita, S. and Miyasaka, N.	Complete cDNA coding sequence for the HLA-DRB1*1405 allele: DRB1 alleles for two DR6 splits do not share the cytoplasmic domain.	DNA sequence	13	359-361	2002
Nanki T, Imai T, Nagasaka K, Nonomura Y, Taniguchi K, Hayashida K, Hasegawa J, Miyasaka N.	Migration of CX3CR1 ⁺ T cells producing Th1-or-Tc1-type cytokines and cytotoxic molecules, into the synovium of patients with rheumatoid arthritis.	Arthritis Rheum.	46	2878-2883	2002
Sakashita C, Fukuda T, Okabe S, Kobayashi H, Hirose S, Tokuhisa T, Miyasaka N, Miura O, Miki T.	Cloning and characterization of the human BAZF gene, a homologue of the BCL6 oncogene.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	291	567-573	2002
Iwai H, Kozono Y, Hirose S, Akiba H, Yagita H, Okumura K, Kohsaka H, Miyasaka N, Azuma M.	Amelioration of collagen-induced arthritis by blockade of inducible costimulator-B7 homologous protein costimulation.	J. Immunol.	169	4332-4339	2002
Yamamoto K, Shibata F, Miyasaka N, Miura O.	The human perforin gene is a direct target of STAT4 activated by IL-12 in NK cells.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	297	1245-1252	2002
Miyake S, Ohtani Y, Sawada M, Inase N, Miyazaki Y, Takano S, Miyasaka N, Yoshizawa Y.	Usefulness of cyclosporine A on rapidly progressive interstitial pneumonia in dermatomyositis.	Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis	19	128-133	2002
Kohsaka H, Nasu K, Matsushita S, Miyasaka N.	Complete cDNA coding sequence of the HLA-DRB1*1405 allele.	DNA Sequence	13	359-361	2002
Nagasaka K, Harigai M, Tateishi M, Hara M, Yoshizawa Y, Koike T, Miyasaka N.	Efficacy of combination treatment with cyclosporin A and corticosteroids for acute interstitial pneumonitis associated with dermatomyositis.	Mod. Rheumatol.		in press	
Fugo K, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Sugaya T, Higuchi M, Tsuji M, Abe A, Suzuki A, Shibata M, Takahashi T, Yoshiki T.	The role of the thymus in development of necrotizing arteritis in transgenic rats carrying the env-pX gene of human T cell leukemia virus type I.	Am J Pathol	161:3	755-761	2002
Sugaya T, Ishizu A, Ikeda H, Nakamaru Y, Fugo K, Higuchi M, Yamazaki H, Imai K, Yoshiki T.	Clonotypic analysis of T cells accumulating at arthritic lesions in HTLV-I env-pX transgenic rats.	Exp Mol Pathol	72:1	56-61	2002
Ogawa Y, Ishizu A, Ishikura H, Yoshiki T.	Elution of IgA from the kidney tissue exhibiting a glomerular IgA deposition and analysis of the antibody specificity.	Pathobiology	70:2	98-102	2002
Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, Koike T, Yoshiki T.	Functional alteration of peripheral CD25 ⁺ CD4 ⁺ immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases.	J Autoimmun	20:1	43-49	2003
Tamada Y, Nakao K, Nagayama Y, Nakata K, Ichikawa T, Kawamata Y, Ishikawa H, Hamasaki K, Eguchi K, Ishii N.	Linp48 Overexpression enhances interferon-mediated expression and activity of double-stranded RNA-dependent protein kinase in human hepatoma cells	J Hepatol	37: 4	493-499	2002

Takino H, Yamasaki H, Abiru N, Sera Y, Abe T, Kawasaki E, Yamaguchi Y, Eguchi K, Kanazawa Y, Nagataki S.	Antibodies to GAD in Japanese patients classified as Type 2 diabetes at diagnosis. High titre of GAD Ab is a predictive marker for early insulin treatment-report of west Japan (Kyushu, Yamaguchi, Osaka) study for GAD Ab(+) diabetes	Diabet Med	19: 9	730-734	2002
Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, Kajiya Y, Kitajima K, Nakao K, Daikoku M, Yatsuhashi H, Koga M, Yano M, Eguchi K.	Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus	Am J Gastroenterol	97: 8	2086-2092	2002
Ohkubo K, Kato Y, Ichikawa T, Kajiya Y, Takeda Y, Higashi S, Hamasaki K, Nakao K, Nakata K, Eguchi K.	Viral load is a significant prognostic factor for hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. Cancer		94: 10	2663-2668	2002
Yamasaki S, Nakashima T, Kawakami A, Miyashita T, Ida H, Migita K, Nakata K, Eguchi K.	Functional changes in rheumatoid fibroblast-like synovial cells through activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ -mediated signalling pathway	Clin Exp Immunol	129: 2	379-384	2002
Sun F, Akazawa S, Sugahara K, Kamihira S, Kawasaki E, Eguchi K, Koji T.	Apoptosis in normal rat embryo tissues during early organogenesis: the possible involvement of Bax and Bcl-2	Arch Histol Cytol	65: 2	145-157	2002
Degawa-Yamauchi M, Uotani S, Yamaguchi Y, Takahashi R, Abe T, Kuwahara H, Yamasaki H, Eguchi K.	Ethanol inhibits leptin-induced STAT3 activation in Huh7 cells	FEBS Lett	525: 1-3	116-120	2002
Kawakami A, Hida A, Yamasaki S, Miyashita T, Nakashima K, Tanaka F, Ida H, Furuyama M, Migita K, Origuchi T, Eguchi K.	Modulation of the expression of membrane-bound CD54 (mCD54) and soluble form of CD54 (sCD54) in endothelial cells by glucosyl transferase inhibitor: possible role of ceramide for the shedding of mCD54	Biochem Biophys Res Commun	296: 1	26-31	2002
Nakao K, Nakata K, Ohtsubo N, Maeda M, Moriuchi T, Ichikawa T, Hamasaki K, Kato Y, Eguchi K, Yukawa K, Ishii N.	Association between nonalcoholic fatty liver, markers of obesity, and serum leptin level in young adults	Am J Gastroenterol	97: 7	1796-1801	2002
Hamada H, Yatsuhashi H, Yano K, Daikoku M, Arisawa K, Inoue O, Koga M, Nakata K, Eguchi K, Yano M.	Impact of aging on the development of hepatocellular carcinoma in patients with posttransfusion chronic hepatitis C	Cancer	95: 2	331-339	2002
Ide A, Kawasaki E, Abiru N, Sun F, Takahashi R, Kuwahara H, Fujita N, Kita A, Oshima K, Sakamaki H, Uotani S, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Eguchi K.	Genetic association between interleukin-10 gene promoter region polymorphisms and type 1 diabetes age-at-onset	Hum Immunol	63: 8	690-695	2002
Kawakami A, Eguchi K.	Involvement of apoptotic cell death in autoimmune diseases	Med Electron Microsc	35: 1	1-8	2002
Ishikawa H, Nakata K, Aritomi T, Ohkubo K, Migita K, Hamasaki K, Yamasaki S, Nakao K, Kato Y, Hayashi T, Eguchi K.	Amyloid a protein amyloidosis in a patient with plasma cell dyscrasia	Intern Med	41: 5	386-391	2002
Ichikawa T, Nakao K, Nakata K, Yamashita M, Hamasaki K, Shigeno M, Abiru S, Ishikawa H, Ishii N, Eguchi K.	Involvement of IL-1 β and IL-10 in IFN- α -mediated antiviral gene induction in human hepatoma cells	Biochem Biophys Res Commun	294: 2	414-422	2002
Kawasaki E, Yamaguchi H, Hattori H, Egashira T, Eguchi K.	Autoantibodies to IA-2 in type 1 diabetes: measurements with a new enzyme-linked immunosorbent assay	Ann N Y Acad Sci	958	241-246	2002
Kawasaki E, Sera Y, Abiru N, Yamauchi M, Ozaki M, Yamakawa K, Abe T, Uotani S, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Eguchi K.	Distinct IA-2 autoantibody epitope recognition between childhood-onset and adult-onset type 1 diabetes	Ann N Y Acad Sci	958	235-240	2002
Eguchi K.	Systemic complications in patients with rheumatism and collagen disease and their treatment	Nippon Naika Gakkai Zasshi	91: Suppl	106-110	2002
Abiru S, Nakao K, Ichikawa T, Migita K, Shigeno M, Sakamoto M, Ishikawa H, Hamasaki K, Nakata K, Eguchi K.	Aspirin and NS-398 inhibit hepatocyte growth factor-induced invasiveness of human hepatoma cells	Hepatology	35: 5	1117-1124	2002

Kambara C, Nakamura T, Furuya T, Nishiura Y, Kawakami A, Ichinose K, Shirabe S, Eguchi K.	Increased sialyl Lewis (x) antigen-positive cells mediated by HTLV-1 infection in peripheral blood CD4(+) T lymphocytes in patients with HTLV-1-associated myelopathy	J Neuroimmunol	125: 1-2	179-184	2002
Fujimoto T, Nakamura T, Nishiura Y, Ichinose K, Furuya T, Shirabe S, Eguchi K	Up-regulation of interleukin-12 receptor expression in peripheral blood mononuclear cells of patients with HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis	J Neurol Sci	196: 1-2	21-26	2002
Yamasaki S, Ueki Y, Nakamura H, Yano M, Matsumoto K, Miyake S, Tominaga T, Tominaga M, Eguchi K.	Effect of filtration leukocytapheresis therapy: modulation of white blood cell enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis	Artif Organs	26: 4	378-384	2002
Yokoyama N, Nagataki S, Uetani M, Ashizawa K, Eguchi K.	Role of magnetic resonance imaging in the assessment of disease activity in thyroid-associated ophthalmopathy	Thyroid	12: 3	223-227	2002
Abiru S, Kato Y, Hamasaki K, Nakao K, Nakata K, Eguchi K.	Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma associated with elevated levels of interleukin 18	Am J Gastroenterol	97: 3	774-775	2002
Ueki Y, Nakamura H, Matsumoto K, Tominaga T, Miyake S, Kita Y, Katayama Y, Fukuyama S, Hirasawa Y, Yoshida K, Eguchi K.	NOR-1: a nitric oxide releasing agent for calibrating low levels of nitric oxide by the chemiluminescence method	Blood Coagul Fibrinolysis	13: 2	75-80	2002
Migita K, Yamasaki S, Ida H, Kita M, Hida A, Shibatomi K, Kawakami A, Aoyagi T, Eguchi K.	The role of peroxynitrite in cyclooxygenase-2 expression of rheumatoid synovium	Clin Exp Rheumatol	20: 1	59-62	2002
Arima T, Nakao K, Nakata K, Ishikawa H, Ichikawa T, Hamasaki K, Ishii N, Eguchi K.	Transactivation of human α -fetoprotein gene by X-gene product of hepatitis B virus in human hepatoma cells	Int J Mol Med	9: 4	397-400	2002
Nagayama Y, Kita-Furuyama M, Ando T, Nakao K, Mizuguchi H, Hayakawa T, Eguchi K, Niwa M.	A novel murine model of Graves' hyperthyroidism with intramuscular injection of adenovirus expressing the thyrotropin receptor	J Immunol	168: 6	2789-2794	2002
Kajiya Y, Hamasaki K, Nakata K, Nakagawa Y, Miyazoe S, Takeda Y, Ohkubo K, Ichikawa T, Nakao K, Kato Y, Eguchi K.	Full-length sequence and functional analysis of hepatitis B virus genome in a virus carrier: a case report suggesting the impact of pre-S and core promoter mutations on the progression of the disease	J Viral Hepat	9: 2	149-156	2002
Kamachi M, Kawakami A, Yamasaki S, Hida A, Nakashima T, Nakamura H, Ida H, Furuyama M, Nakashima K, Shibatomi K, Miyashita T, Migita K, Eguchi K.	Regulation of apoptotic cell death by cytokines in a human salivary gland cell line: distinct and synergistic mechanisms in apoptosis induced by tumor necrosis factor α and interferon γ	J Lab Clin Med	139: 1	13-19	2002
Eguchi K.	Systemic lupus erythematosus complicated by cytomegalovirus-induced hemophagocytic syndrome and colitis	Intern Med	41: 2	77-78	2002
Yonetsu K, Takagi Y, Sumi M, Nakamura T, Eguchi K.	Sonography as a replacement for sialography for the diagnosis of salivary glands affected by Sjögren's syndrome	Ann Rheum Dis	61: 3	276-277	2002
Suzuki-Kurokawa M, Ooka S, Matsui T, Sekine T, Yamamoto K, Nishioka K, Kato T.	Expression of MHC class I molecules together with antigenic peptides on filamentous phages.	Immunology Letters.	80	163-168	2002
Onuma H, Masuko-Hongo K, Yuan GH, Sakata M, Nakamura H, Kato T, Aoki H, Nishioka K.	Expression of the anaphylatoxin receptor C5aR (CD88) by human articular chondrocytes.	Rheumatol Int.	22	52-55	2002
Sakata M, Masuko-Hongo K, Tsuruha J, Sekine T, Nakamura H, Takigawa M, Nishioka K, Kato T.	YKL-39, a human cartilage-related protein, induces arthritis in mice.	Clin Exp Rheumatol.	20	343-350	2002
Tsuruha J, Masuko-Hongo K, Kato T, Sakata M, Nakamura H, Sekine T, Takigawa M, Nishioka K.	Autoimmunity against YKL-39, a human cartilage-derived protein in patients with osteoarthritis.	J. Rheumatol.	29	1459-1466	2002
Takahama H, Masuko-Hongo K, Takana A, Kawa Y, Ohta N, Yamamoto K, Nishioka K, Mizoguchi M, Kato T.	T cell clonotypes specific for Dermatophagoides Pteronyssinus in the skin lesion of patients with atopic dermatitis.	Hum. Immunol.	63	558-566	2002
Kojima K, Kurokawa MS, Tanimoto K, Kojima Y, Hara M, Yoshino T, Harada M, Tanimoto M, Nishioka K, Kato T.	Clonal expansion of limited T cell clonotypes in affected muscle from a patient with post-transplant polymyositis	Bone Marrow Transplantation	30	467-470	2002

Okamoto N, Yotsuyanagi H, Ooka S, Matsui T, Kurokawa M, Suzuki M, Iino S, Nishioka K, Kato T.	Autoantibodies to CD69 in patients with chronic hepatitis type C; a Candidate marker for predicting response to the IFN therapy.	Intervirology	46	56-65	2003
Yoshida,K.,Arai,T.,Kaburaki,J., Ikeda,Y.,Kawakami,Y., Kuwana,M.	T cell receptor β -chain usage by T cells autoreactive to β 2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome.	Blood.	99 : 7	2499-2504	2002
Kuwana,M.,Okazaki,Y., Kaburaki,J.,Kawakami,Y.,Ikeda,Y.	Spleen is a primary site for activation of platelet-reactive T and B cells in patients with immune thrombocytopenic purpura.	J. Immunol.	168 : 7	3675-3682	2002
Kubo,M.,Ihn,H.,Kuwana,M., Asano,Y.,Tamaki,T., Yamane,K., Tamaki,K.	Anti-U5 snRNP antibody as a possible serological marker for scleroderma-polymyositis overlap.	Rheumatology.	41 : 5	531-534.	2002
Kuwana,M.,Okazaki,Y., Kajihara,M.,Kaburaki,J., Miyazaki,H.,Kawakami,Y., Ikeda,Y.	Autoantibody to c-Mpl (thrombopoietin receptor) in systemic lupus erythematosus: relationship to thrombocytopenia with megakaryocytic hypoplasia.	Arthritis Rheum.	46 : 8	2148-2159.	2002
Kuwana,M.,Kimura,K., Hirakata,M.,Kawakami,Y., Ikeda,Y.	Differences in anti-Th/To autoantibody response between systemic sclerosis and other autoimmune diseases.	Ann. Rheum. Dis.	61 : 9	842-846.	2002
Kuwana,M.,Kimura,K., Kawakami,Y.	Identification of an immunodominant epitope on RNA polymerase III recognized by systemic sclerosis sera: application to enzyme-linked immunosorbent assay.	Arthritis Rheum.	46 : 10	2742-2747.	2002
Kuwana,M.	Induction of anergic and regulatory T cells by plasmacytoid dendritic cells and other dendritic cell subsets.	Hum. Immunol.	63 : 12	1156-1163.	2002
Kuwana,M.,Kawakami,Y., Ikeda,Y.	Suppression of autoreactive T-cell response to glycoprotein IIb/IIIa by blockade of CD40/CD154 interaction: implications for treatment of immune thrombocytopenic purpura.	Blood.	101 : 2	621-623.	2003
F.Yi, K.K.Ishii, Y.Munakata, T.Saitoh, M.Kaku, T.Sasaki:	Regulation of tumor necrosis factor alpha promoter by human parvovirus B19 NS1 through activation of AP-1 And AP-2.	J.Virology	76	5395-5403	2002
M.Takahashi, T.Funato, Y.Suzuki, H.Fujii, K.Kumuraishi, M.Kaku, andT.Sasaki:	Chemically modified Ribozyme Targeting TNF- α and IL-6 Synthesis in synovial Fibroblasts of patients with Rheumatoid Arthritis.	J.Clin.Immunol.	22	228- 236	2002
H.Harigae, R.Ichinohasama, I.Miura, J.Kameoka, K.Meguro, K.Miyamura, O.Sasaki, I.Ishikawa, S.Takahashi, M.Kaku, and T.Sasaki	Primary marginal zone lymphoma of the thymus accompanied by chromosomal cytogenetics mal anomaly, 46X, dup(X)(p11p22).	Cancer Genetics	133	142-1 47	2002
Y.Minami, T.Sasaki, Y.Arai, T.Hosokawa, S. Hisamichi, and The Miyagi Lupus Study Group	Psychological profiles and health status in Japanese female patients with systemic lupus erythematosus.	Journal of Epidemiology	12	55-63	2002
T.Funato, S.Uehara, M.Takahashi, K.Kozawa, J.Satoh, T.Sasaki, and M.Kakusis patients	Microsatellite instability in gonadal tumors of XY pure gonadal dysgene	Int. J. Gynecol Cancer.	12	192- 197	2002
O.Sasaki, K.Meguro, Y.Tohmiya, T.Funato Shibahara S, and Sasaki T.	Nucleotide alteration of retinoblastoma protein-interacting zinc gene, RIZ, in human leukemia.	Tohoku J Exp finger Med.	193	193- 201	2002
M.Okuda, J.Nomura, H.Takeno, J.Kameoka, and T.Sasaki.	CD546 positive intestinalT-cell lymphoma: treatment with high dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation.	Int Med			2002
T.Saito Y.Munakata, Y.Fi, K.Ishii, H.Fujii, E.Miyagawa, T.Sasaki:	Evaluation of anti-parvovirus B19 neutralizing activity by quantitative polymerase chain-reaction-based assay	J. Virol. Meth	107	81-87	2002
Y.Hirabayashi,S.Saito,M.Takeshita, T.Kodera, Y.Munakata, T.Ishii, H.Fujii, M.Shimura, and T.Sasaki.	Mononeuritis multiplex, protein-losinggastroenteropathy and chroido Rheumatol. pathy seen together in a case systemic lupus erythematosus	Modern Rheumatol.	InPress		2003
Y.Minami, T.sasaki, S.Hisamichi.	Dietary factors in relation to clinical manifestations of systemic lupus erythematosus.	J. Rheum	InPress		2003
N.Takasawa, Y.Munakata, Y.Takahashi, M.Takahashi, Y.Fu, T.Node, M.Nose, T.Sasaki.	Human parvovirus B19-transgenic mice become become susceptible to polyarthritis.Investigation	J. Clinical.	InPress		2003