

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）  
分担研究報告書

自己免疫疾患のNKT細胞糖脂質リガンド療法開発に関する研究

分担研究者 山村 隆 国立精神・神経センター神経研究所疾病第六部研究部 部長  
研究協力者 三宅 幸子 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 室長

研究要旨 NKT細胞を刺激して、Th2サイトカインを選択的に産生させることによって実験的自己免疫性脳脊髄炎、コラーゲン関節炎、NODマウスにおける糖尿病などのTh1細胞が病態を悪化させる自己免疫疾患を抑制する合成糖脂質OCHについて報告してきた。NKT細胞のリガンドとして汎用されている $\alpha$ -GCは、NKT細胞を刺激して疾患抑制的に働くIL-4の他に疾患を増悪させるIFN- $\gamma$ を産生させるが、OCHはIL-4を選択的に産生させる。本年度は、OCHがTh2サイトカインを選択的に産生させる機序を検討した。スフィンゴシン鎖の長さがCD1との結合性、IFN- $\gamma$ 産生能と相関した。NKT細胞を、固相化抗CD3抗体を用いて時間を変えて刺激すると、IFN- $\gamma$ の産生には、刺激時間はIL-4より長い刺激時間が必要だった。また、蛋白合成阻害剤であるサイクロヘキサミドで阻害されることから新たな蛋白合成を必要とすることがわかった。マイクロアレイを用いた解析からc-Relの誘導がIFN- $\gamma$ の産生に重要であることがわかった。以上のことからTh2サイトカインが選択的に産生されると考えられる機序は、OCHはCD1との結合安定性が低いためにT細胞受容体刺激時間が短く、十分なc-Relの産生誘導がおこせず、IFN- $\gamma$ 産生に至らないためと考えられる。

A. 研究目的

OCHは、NKT細胞を刺激して、Th2サイトカインを選択的に産生させることによって実験的自己免疫性脳脊髄炎、コラーゲン関節炎、NODマウスにおける糖尿病などのTh1細胞が病態を悪化させる自己免疫疾患を抑制する。一方、NKT細胞のリガンドとして汎用されている $\alpha$ -GCは、NKT細胞を刺激して疾患抑制的に働くIL-4の他に疾患を増悪させるIFN- $\gamma$ を産生させるためにEAEを抑制できない。OCHのみがIL-4を選択的に産生させる機序を解明することは、OCHによる自己免疫抑制機序を理解する上で大変重要であると考え、本研究を行った。

B. 研究方法

OCHとCD1分子との結合安定性を調べるために、CD1を導入した細胞株を抗原提示細胞として用いてFura-red, Fulo-4でラベルしたNKT細胞を刺激し、経

時的にフローサイトメトリーでCa流入を測定することによって、CD1と糖脂質がどの程度の安定性で結合しているかを $\alpha$ -GCと比較した。ClassII遺伝子欠損マウスに抗アシアロGM1抗体を投与し、36時間後にOCH、 $\alpha$ -GCを投与し、その90分後、12時間後に肝臓もしくは脾臓からNKT細胞をFITC-NK1.1抗体、抗FITC-Macs beadsを用いて分離してmRNAを調整し、遺伝子変化をAffimetrix社のGeneChipを用いて解析した。遺伝子発現の変化を検討するために、Light-cyclerを用いたreal-time PCRを併用した。抗NK1.1抗体、抗CD3抗体による2重染色を行い、セルソーターを用いて分離したNKT細胞を、固相化CD3抗体を用いて刺激し、刺激時間を変化させて細胞培養上清中のIL-4、IFN- $\gamma$ をELISA法にて測定した。各サイトカインのmRNAの発現は、real time PCRを用いて検討した。レトロウイルスベクターを用いて、wild type c-Relと作成したdominant negative mutantをNKT細胞に移入し、刺激後の細胞培

養上清液のサイトカインを ELISA 法で測定した。

### C. 研究結果

OCH は、 $\alpha$ -GC と比較して短時間で NKT ハイブリドーマを活性化する能力が低下し、CD1 との結合性が弱いことが証明された。また、スフィンゴシン鎖が  $\alpha$ -GC と OCH の中間である合成糖脂質は、CD1 との結合性について  $\alpha$ -GC と OCH の中間であることから、スフィンゴシン鎖の長さが CD1 との結合性と比例した。また、これらの中間合成体は IFN- $\gamma$  産生においても  $\alpha$ -GC と OCH の中間であり、CD1 との結合性安定性と比例した。次に刺激時間によって、サイトカイン産生パターンが異なるかどうかを検討するために、セルソーターで分離した NKT 細胞を、固相化抗 CD3 抗体を用いて時間を変えて刺激すると、IL-4 産生は 2 時間の刺激で起こったが、IFN- $\gamma$  の刺激は 3 時間程度の刺激が必要であった。NFAT 誘導阻害剤であるサイクロスポリン A (CsA) を添加すると、IL-4、IFN- $\gamma$  両者とも産生がみられなくなった。蛋白合成阻害剤であるサイクロヘキサミド(CHX)を加えると、IFN- $\gamma$  のみ mRNA 産生が抑制され IL-4 は影響がなかった。DNA マイクロアレイを用いた検討では OCH 刺激では、サイトカイン、ケモカインを含む多くの遺伝子で  $\alpha$ -GC と比較して発現量は低下していた。特に IFN- $\gamma$ 、IL-2 などは発現が著しく低下していた。 $\alpha$ -GC 刺激のみで上昇のみられる IFN- $\gamma$  産生に関与することが知られている転写因子を検索すると、c-Rel が  $\alpha$ -GC 刺激で選択的に上昇していた。c-Rel の dominant negative mutant を作製し、レトロウイルスベクターを用いて分離した NKT 細胞に遺伝子導入した。dominant negative mutant を導入した細胞では、刺激によるサイトカイン産生が著しく抑制され、c-Rel が NKT 細胞の IFN- $\gamma$  に重要な因子であることが明らかとなった。

### D. 考察

OCH と  $\alpha$ -GC のサイトカイン産生パターンの違いが、両者の CD1 との結合安定性が、3 次元的に異なる状態で提示されているのかについては、少なくとも前者の要素は存在することが明らかとなった。後者の可能性に

ついては、否定はできず今後結晶構造解析など異なる手法での解析が必要である。

IFN- $\gamma$  の産生に必要な刺激時間は IL-4 より長く、新たな蛋白合成を必要とすることがわかった。c-Rel は少なくとも必要とされる蛋白のうち重要な因子であることが明らかとなった。c-Rel の発現は、サイクロスポリン A により抑制されるが、サイクロヘキサミドには抑制されず、T 細胞受容体からの刺激で他の蛋白産生を伴わずに発現される点は IL-4 と同様であるが、その発現には IL-4 より若干長い刺激が必要であることもわかった。さらに、IFN- $\gamma$  の発現には NFAT が必要であるが、NFAT は T 細胞受容体からの刺激が途絶えると速やかに核外に移行する。したがって、c-Rel の発現も不十分であるが、NFAT の核外移行のために IFN- $\gamma$  が産生されない可能性もあり、今後検討が必要である。

### E. 結論

OCH は、CD1 との結合安定性が低いために T 細胞受容体にはいる刺激時間が短く、十分な c-Rel の産生誘導がおこせず、IFN- $\gamma$  産生が起こらないために Th2 サイトカインが選択的に産生されると考えられる。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Koike, F., J-i. Satoh, T. Kondo, S. Miyake, T. Yamamoto, M. Kawai, S. Kikuchi, K. Nomura, K. Yokoyama, K. Ota, T. Kanda, T. Fukazawa, and T. Yamamura: Microarray analysis identifies IFN $\beta$ -regulated genes in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.* 139: 109-118, 2003
- 2) Bedoui, S., S. Miyake, Y. Lin, K. Miyamoto, S. Oki, N. Kawamura, A. Beck-Sickingler, S. von Hoersten, and T. Yamamura: Neuropeptide Y (NPY) suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: NPY Y1 receptor-specific inhibition of autoreactive Th1 responses in vivo. *J. Immunol.* 171:

3451-3458, 2003

3) Chiba, A., S. Oki, K. Miyamoto, H. Hashimoto, T. Yamamura, and S. Miyake: Natural killer T-cell activation by OCH, a sphingosine truncated analogue of  $\alpha$ -galactosylceramide, prevents collagen-induced arthritis. *Arthr. Rheumat.* 50:305-313, 2004

4) Illes, Zs., M. Shimamura, J. Newcombe, N. Oka, and T. Yamamura: Accumulation of V $\alpha$ 7.2J $\alpha$ 33 invariant T cells in autoimmune inflammatory lesions of the nervous system. *Int. Immunol.* 16: 223-230, 2004

5) Bedoui, S., N. Kawamura, R.H. Straub, R. Pabst, T. Yamamura, and S. von Horsten: Review. Relevance of neuropeptide Y for the neuroimmune crosstalk. *J. Neuroimmunol.* 134: 1-11, 2003

#### H. 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

## 抗原特異的 CD8T 細胞の細胞増殖とその制御に関する研究

分担研究者 上阪 等 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 助教授

**研究要旨** 多発性筋炎、1 型糖尿病、橋本病などの免疫疾患では、自己反応性 CD8T 細胞が組織破壊をきたしていることが知られている。元来、CD8T 細胞は CD4T 細胞と比べて増殖性に富み、抗原特異的の刺激で末梢血中にクローン性増多し易い。実際に、多発性筋炎患者末梢血でも、病態形成性 CD8T 細胞と考えられる細胞のクローン性増多を認める。今年度は、このような CD8T 細胞に特徴的な細胞増殖性を *in vitro* にて再現し、そのメカニズムの解析を試みた。

**【方法】** 健常者末梢血および C57BL/6 マウス由来 T 細胞を抗 CD3 抗体と IL-2 にて刺激し、CD4 および CD8T 細胞の増殖性を観察した。また、IL-2 リセプター発現量および IL-2 シグナル伝達経路である JAK/STAT、Ras/ERK および PI3K/Akt 経路の活性化を両細胞間で比較検討した。**【結果】** 健常者末梢血および C57BL/6 マウス由来 CD8T 細胞は、CD4T 細胞よりも著しく増殖が速かった。また、IL-2 リセプター発現量は両細胞間で同程度であるにも関わらず、IL-2 刺激に対する JAK1、JAK3 およびその下流の STAT5、ERK および Akt のリン酸化は、CD8T 細胞において CD4T 細胞よりも強く認められた。一方、JAK1 および JAK3 の上流に存在する分子である CD45 のチロシンフォスファターゼ活性は、CD4T 細胞において CD8T 細胞よりも高かった。**【結論】** CD4T 細胞に比較した CD8T 細胞の強い細胞増殖性は、CD45 チロシンフォスファターゼ活性の低下による JAK1 および JAK3 の強い活性化に起因すると推察された。

### A. 研究目的

我々の分担研究の目的は、免疫・アレルギー疾患の病態の主要な役割を演じる抗原特異的リンパ球の細胞増殖性御機構を解析し、新規治療法開発の可能性を探ることである。本研究班で扱う免疫疾患には、多発性筋炎、1 型糖尿病および橋本病など、自己反応性 CD8T 細胞が組織破壊をきたしている疾患群がある。元来、CD8T 細胞は CD4T 細胞と比べて増殖性に富み、抗原特異的の刺激で末梢血中にクローン性増多し易い。実際に、多発性筋炎患者末梢血では、病態形成性 CD8T 細胞のクローン性増多を認める (平成 13 年度報告)。そこで、今年度は病態形成性 CD8T 細胞の増殖を阻止する方法を探るため、CD8T 細胞に特徴的な細胞増殖性を *in vitro* で再現し、そのメカニズムの解析を試みた。

### B. 研究方法

健常成人末梢血または C57BL / 6 マウス脾臓由来のリンパ球より、磁気ビーズを用いて T 細胞を回収した。回収したヒトまたはマウス T 細胞を PHA または抗 CD3 抗体 にて 3 日間刺激した後、IL-2 添加培地にて培養し、CD4T および CD8T 細胞数を経時的に観察した。また、CD4T および CD8T 細胞における IL-2 リセプター発現量をフローサイトメトリー法で解析した。さらに、両サブセットの増殖に差が認められる時期にタンパクを抽出し、IL-2 シグナル伝達経路に存在する JAK1、JAK3、STAT5、Akt および ERK のリン酸化をウエスタンブロット法にて検討した。また、抗 CD45 抗体による免疫沈降法およびマラキートグリーン法を用いて、両サブセットにおける CD45 活性の差を検討した。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、検体の起源の匿名性に配慮し、東京医科歯科大学倫理委員会の承諾を得て行なった。

#### C. 研究結果

健康成人末梢血または C57BL / 6 マウス由来の T 細胞を PHA または抗 CD3 抗体にて 3 日間刺激した後、IL-2 添加培地にて培養したところ、CD8T 細胞において CD4T 細胞よりも著しく速い増殖が観察された。

両サブセットにおける IL-2 リセプター発現量の差が原因で増殖性が異なっていることが予測されたため、フローサイトメトリー法にて IL-2 リセプターサブユニットである CD25 (IL-2R リセプター  $\alpha$  鎖)、CD122 (IL-2R リセプター  $\beta$  鎖) および CD132 (IL-2R リセプター  $\gamma$  鎖) 発現量を検討したところ、両サブセット間において著しい差は観察されなかった。

次に、IL-2 シグナル伝達経路である JAK / STAT、Ras / ERK および PI3K / Akt 経路に存在する分子のリン酸化をウエスタンブロット法を用いて検討したところ、IL-2 刺激に対する JAK1、JAK3 およびその下流の STAT5、ERK および Akt のリン酸化は、CD8T 細胞において CD4T 細胞よりも強く認められた。また、JAK1 および JAK3 の上流に存在する分子である CD45 のチロシンフォスファターゼ活性は、CD4T 細胞において CD8T 細胞よりも高かった。

#### D. 考察

多発性筋炎患者末梢血では、病態形成性 CD8T 細胞と考えられる細胞のクローン性増多を認め、また、元来 CD8T 細胞は CD4T 細胞に比べて増殖性に富むことが *in vivo* 試験系にて報告されている。今回の研究において、PHA または抗 CD3 抗体と IL-2 にて刺激することにより *in vitro* 試験系によっても CD8T 細胞の増殖特性を再現できることが明らかとなった。また、IL-2 リセプター発現量は両細胞間で同程度であるにも

関わらず、IL-2 刺激に対する JAK1、JAK3 およびその下流の STAT5、ERK および Akt の著しく強いリン酸化が CD8T 細胞において認められたことから、CD8T 細胞は CD4T 細胞よりも IL-2 刺激に対する感受性が強い可能性が示唆された。さらに、CD4T 細胞と CD8T 細胞における IL-2 刺激に対する感受性の相違は、両細胞における CD45 チロシンフォスファターゼ活性の相違に起因する可能性が示唆された。

#### E. 結論

CD4T 細胞に比較した CD8T 細胞の強い細胞増殖性は、CD45 チロシンフォスファターゼ活性の低下による JAK1 および JAK3 の強い活性化に起因すると推察された。今後、さらなる解析を進めることで、抗原特異的 CD8T 細胞の細胞増殖機構を明らかにし、その制御法の示唆を得ることができると考えている。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

関 巖、杉原毅彦、宮坂信之、上阪 等：末梢 CD8T 細胞クローン性増多を制御する因子。第 33 回日本免疫学会・学術集会、福岡、2003 年 12 月

#### H. 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

## 制御性 T 細胞に関する研究

分担研究者 坂口 志文 京都大学再生医科学研究所 教授

**研究要旨** Foxp3 遺伝子が、正常個体に内在する制御性 T 細胞の発生・分化のマスター制御遺伝子であることを明らかにした。本年度、ヒト末梢血中の正常 T 細胞に Foxp3 遺伝子を導入・発現させることで制御性 T 細胞に変換できるとの結果を得た。この結果は、制御性 T 細胞を用いた新しい免疫病治療法の可能性を示す。

### A. 研究目的

免疫自己寛容の一面は、制御性 T 細胞による自己反応性 T 細胞の制御によって維持されている。本研究では、制御性 T 細胞による制御の分子的基础を解明する。またその操作による自己免疫病の治療法を探る。

### B. 研究方法

(1) マウスを用いて、CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性 T 細胞による制御に関与する遺伝子を探索・同定する。(2) 制御を媒介する遺伝子の導入による制御性 T 細胞の機能強化、あるいは、ナイーブ T 細胞から制御性 T 細胞の新たな作製を試みる。

(3) 作製した制御性 T 細胞について、自己免疫病の治療が可能か、マウスを用いて検討する。

(4) ヒト末梢血中の制御性 T 細胞を用いた細胞療法を確立すべく、遺伝子導入による試験管内でのヒト制御性 T 細胞の作製を試みる。

(倫理面への配慮)

当研究所の動物実験指針、また倫理規定に則り実験を行なった。

### C. 研究結果

FOXP3 は、ヒトの遺伝性疾患 IPEX (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy,

X-linked syndrome)の原因遺伝子である。昨年度、Foxp3 が、マウスの胸腺、末梢 CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞に特異的に発現していると報告した。レトロウイルスベクターに Foxp3 遺伝子を組み込み、正常マウスのナイーブ T 細胞を制御性 T 細胞に転換できることを示した。本年度、ヒト末梢 T 細胞における FOXP3 遺伝子の発現を検索したところ、FOXP3 は、末梢血 CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞に特異的に発現していた。また、ナイーブ T 細胞を様々な方法で活性化しても FOXP3 の発現を誘導できなかった。マウスと同じく、レトロウイルスベクターに FOXP3 遺伝子を組み込み、末梢血ナイーブ T 細胞を制御性 T 細胞に転換できた。

### D. 考察

FOXP3 遺伝子はヒト CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 細胞に特異的に発現しており、制御性 T 細胞の特異的分子マーカーである。また、FOXP3 遺伝子を導入により、ヒト末梢血ナイーブ T 細胞を制御性 T 細胞に転換できる。

### E. 結論

ヒト末梢血正常 T 細胞に FOXP3 遺伝子を導入し制御性 T 細胞を作製できる。これを用いた自己免疫病の細胞療法が可能である。

## F. 健康危険情報

該当せず。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Suri, A., Shimizu, J., Katz, J. D., Sakaguchi, S., Unanue, E. R., and Kanagawa, O.: Regulation of autoimmune diabetes by non-islet-specific T cells - a role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Eur. J. Immunol.* 34: 447-454, 2004.

Kajiura, F., S. Sun, T. Nomura, K. Izumi, T. Ueno, Y. Bando, N. Kuroda, H. Han, Yi Li, A. Matsushima, Y. Takahama, S. Sakaguchi, T. Mitani and M. Matsumoto. 2004. NF- $\kappa$ B-inducing kinase establishes self-tolerance in a thymic-stroma dependent manner. *J. Immunol.* 172: 2067-2075, 2004..

Hori, S., and Sakaguchi, S.: Foxp3, a critical regulator of regulatory T cell development and function. *Microbes and Infection.* In press.

Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: CD25+CD4+ regulatory T cells. In "Measuring Immunity" eds. Michael Lotze and Angus Thompson, Elsevier. In press.

Choi, B. K., Bae, J. S., Choi, E. M., Kang, W. J., Sakaguchi, S., Vinay, D. S., and Kwon, B. S. 2003. 4-1BB-dependent inhibition of immunosuppression by activated CD4+CD25+ T cells. *J. Leukoc. Biol.* In press.

Zhang, X., Koldzix, D.J., Izikson, L., Reddy, J., Nazareno, R. F., Sakaguchi, S., Kuchroo, V. K., and Weiner, H. L. IL-10 is involved in the suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD25+CD4+ regulatory T cells. *Int. Immunology.* 16: 1-8, 2004.

Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Development and function of CD25+CD4+ regulatory T cells. *Curr. Opinion in Immunol.* In press.

Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.: A paragon of self-tolerance: Regulatory T cells and the control of immune responses. *Arthritis Res. Ther.* 6: 19-25, 2004.

Sakaguchi, S.: The origin of FOXP3-expressing CD4+ regulatory T cells: thymus or periphery. *J. Clin. Invest.* 112: 1310-1312, 2003.

Sakaguchi, N., Takahashi, T., Hata, H., Nomura, T.,

Tagami, T., Yamazaki, S., Sakihama, T., Matsutani, T., Negishi, I., Nakatsuru, S., and Sakaguchi, S.: Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature.* 426:454-60, 2003.

Sakaguchi, S.: Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Ann. Rev. Immunol.* In press.

Sakaguchi, S.: Taming transplantation by regulatory T cells. *Nature Medicine* 9: 1117-1118, 2003.

Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S. Control of autoimmunity by natural regulatory T cells. *Adv. Immunol.* 81: 329-369, 2003.

Takahashi, T. and Sakaguchi, S.: Naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells in maintaining immunologic self-tolerance and preventing autoimmune disease. *Curr. Mol. Med.* 3: 693-706, 2003.

Sakaguchi, S. Control of immune responses by naturally arising CD4+ regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 197: 397-401, 2003.

Hori, S., Nomura, T., and Sakaguchi, S.: Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 299: 1057-1061, 2003.

Wood, K. and Sakaguchi, S. Regulatory T cells in transplantation. *Nature Rev. Immunol.* 3: 199-210, 2003.

Sakaguchi, S. Regulatory T cells: mediating compromises between host and parasite. *Nature Immunol.* 4: 10-11, 2003.

Takahashi, T., and Sakaguchi, S.: The role of regulatory T cells in controlling immunologic self-tolerance. *Int. Rev. Cytol.* 225: 1-32, 2003.

Sakaguchi, S., Hori, S., Fukui, Y., Sasazuki, T., Sakaguchi, N., and Takahashi, T. Thymic generation and selection of CD25+CD4+ regulatory T cells: Implications of their broad repertoire and high self-reactivity for the maintenance of immunologic self-tolerance. *Novartis Foundation Symposium.* 252: 6-16; discussion 16-23, 106-14, 2003.

Wood, K. J., H. Ushigome, M. Karim, A. Bushell, H. S and S. Sakaguchi. Regulatory T cells in transplantation. *Novartis Foundation Symposium.*

## 2. 学会発表

- 高橋武司：CD25+CD4+制御性 T 細胞による免疫の調節 第 15 回日本神経免疫学会学術集会 (2003.3.12-14 長崎)
- 堀 昌平, 野村尚史, 坂口志文：転写因子 *Foxp3* による制御性 T 細胞分化の制御. 第 13 回 KTCC(2003.6.27-28 京都)
- 瀬戸口留可, 堀 昌平, 高橋武司, 坂口志文：免疫制御性 CD25+CD4+T 細胞の維持における IL-2 の役割. 第 13 回 KTCC(2003.6.27-28 京都)
- 西岡朋尚, 高橋武司, 坂口志文：マウス GITR-Ligand の発現と機能: 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 堀 昌平, 野村尚史, 坂口志文：転写因子 *Foxp3* による制御性 T 細胞分化の制御. : 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 八木治彦, 野村尚史, 堀 昌平, 中村恭子, 藤井信吾, 坂口志文：ヒト *FOXP3* による制御性 T 細胞分化の制御. : 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 小野昌弘, 清水淳, 堀昌平, フェバリゾルタン, 野村尚史, 高橋武司, 宮地良樹, 坂口志文：GITR<sup>high</sup>T 細胞の除去による致死的自己免疫性心筋炎および他の臓器特異的自己免疫病の誘導：制御性 T 細胞における GITR、*Foxp3* の発現相関：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 高貴範, 野村尚志, 山崎小百合, 清水淳, 廣田圭司, 中村恭子, 千葉勉, 坂口志文：CD25+CD4+制御性 T 細胞の操作による腫瘍免疫の誘導 : 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 西村英士, 先浜俊子, 瀬戸口留可, 田中統一, 坂口志文：移植免疫寛容モデルにおける CD25+CD4+制御性 T 細胞の表現型・機能変化の解析: 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 瀬戸口留可, 堀 昌平, 高橋武司, 坂口志文：IL-2 の生体内中和による CD25+CD4+制御性 T 細胞の減少と自己免疫病の誘導：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- Fehervari Zoltan, Shimon Sakaguchi: The role of Dendritic cells in the in vivo activation of CD4+CD25+ regulatory cells: 第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 田中聡, 野村尚志, 坂口教子, 坂口志文：SKG マウスの自己免疫性関節炎発症における制御性 T 細胞の役割：第 33 回 日本免疫学会

- 総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 吉富啓之, 田中聡, 野村尚志, 坂口教子, 中村高志, 坂口志文：環境因子としての真菌感染による SKG マウス自己免疫性関節炎の惹起：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 廣田圭司, Fehervari Zoltan, 吉富啓之, 野村尚志, 芹沢功, 五十嵐美徳, 若杉尋, 坂口教子, 坂口志文：SKG マウスにおける iNKT 細胞機能解析：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 岸祐介, 饗場祐一, 坂口教子, 坂口志文, 菊谷仁, 鏑田武志：B 細胞特異的 CD40 シグナルによる SKG マウス RA 様関節炎の発症：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 金丸史子, ボーンパニユアンナーク, 高橋武司, 坂口志文, 東みゆき：CD4+T 細胞における GITR の Costimulatory 機能：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 松本満, 野村尚志, 上野智雄, 松島明美, 高浜洋介, 坂口志文, 黒田範行：胸腺上皮細胞の形成障害にもとづく自己免疫疾患病態の解析：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- Sakaguchi, S.: SKG mice, a new genetic model of rheumatoid arthritis. 3rd World Congress of the Global Arthritis Research Network (GARN): International Arthritis Summit (2003.9.14-17 宮崎)
- 高橋武司：CD25+CD4+制御性 T 細胞による免疫制御 第 31 回日本臨床免疫学会総会 (2003.10.9-10 東京)
- Sakaguchi, S.: Naturally arising CD25+CD4+regulatory T cells in immunologic self-tolerance: Their role in self-tolerance and transplantation tolerance. 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10. 福岡)
- Sakaguchi, N.: SKG mice, a new genetic model of rheumatoid arthritis. 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答の制御：第 33 回 日本免疫学会総会 (2003.12.8-10 福岡)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 (出願中)  
Foxp3 発現リンパ球による免疫病の治療法
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## SLE に対する抗 CD20 抗体療法に関する研究

分担研究者 田中良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授

**研究要旨** 全身性エリテマトーデス（SLE）を始めとする全身性自己免疫疾患の発症過程には、自己反応性 T 細胞の活性化、B 細胞活性化と自己抗体による組織障害が関与する。したがって、リンパの細胞表面機能分子は、免疫是正の最適の標的となる。生物学的製剤は、特定の標的分子制御を目的として精製された蛋白質で、その代表が抗体医薬である。本年度は、ステロイド薬や免疫抑制薬に抵抗性の重症 SLE 患者 5 症例を対象に、SLE の病態形成過程で中心的な役割を担う B 細胞に特異的に発現する CD20 抗原を標的とした CD20 抗体リツキシマブ療法を施行し、難治性 SLE に奏効するとの予備的成績を得た。また、CD20 抗体の作用機転として、B 細胞制御を介して自己反応性 T 細胞による免疫異常の是正を齎し、自己免疫を一時的にリセットしている可能性が示唆された。

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス（SLE）の発症過程では、自己反応性 T 細胞の活性化、それによる B 細胞の活性化と自己抗体の過剰産生を介する臓器障害が生ずる。SLE の急性期治療に関しては明確な指標はないが、疾患活動性が高く、臓器病変を伴う重症な病態に対しては、ステロイド薬大量療法と免疫抑制薬の併用が推奨される。しかし、多くの免疫抑制薬は保険未収載であり、臨床試験を経た薬物の開発が必至である。SLE は、活性化 B 細胞による過剰な自己抗体産生により齎される免疫複合体病でもあり、B 細胞の表面分子は治療標的として重要である。モノクローナル抗体に代表される生物学的製剤は、病態形成に関与する特定の標的分子の制御を目的とする治療法であり、CD20 を標的とした抗体療法は格好な免疫調節療法となり得る。リツキシマブを用いた CD20 抗体療法は B 細胞リンパ腫を対象に保険収載されるが、本研究では、ステロイドや免疫抑制剤に抵抗性の重症 SLE 症例を対象に、B 細胞を標的とした CD20 抗体療

法を施行し、臨床的、並びに、基礎的検討を行った。

### B. 研究方法

ステロイドや免疫抑制剤に抵抗性を示した重症 SLE の 5 症例に対し、インフォームドコンセント取得の上、CD20 抗体リツキシマブ 375mg/m<sup>2</sup>/週を 2 回投与し、臨床症候、検査成績、画像所見、及び、フローサイトメーターによる末梢血リンパ球上の機能分子の発現変化などを検討した。

#### （倫理面への配慮）

臨床研究を実践する場合には、所属機関の倫理委員会、或は、IRB で承認を得た研究に限定し、患者及び家族からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が入所機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にする。

### C. 研究結果

症例 1 は 35 歳女性。平成 3 年の発症以来、ループス腎炎や中枢神経系 (CNS) ループスの寛解増悪を反復し、各種免疫抑制薬やステロイドパルス療法による強力治療を反復したが、CNS ループスに伴う意識障害が増悪し、1 日尿蛋白量 7g、ds-DNA 抗体値 1191 を示した。リツキシマブ 375 mg/m<sup>2</sup>/週 1 回を 2 週間反復投与し、5 日後意識が正常化し、ds-DNA 抗体値や尿蛋白量も改善した。症例 2 は、55 歳女性。SLE の診断で近医にて 23 年間ステロイド治療をされた。平成 13 年、子宮頸癌術後に溶血発作、血管内赤血球凝集と CNS ループスを呈したが、リツキシマブにより、赤血球凝集は消失し、溶血は改善し、輸血不要となった。症例 3 は、46 歳女性。平成 15 年 4 月、腎障害 (WHO IV)、意識障害、ds-DNA 抗体 334 汎血球減少を伴う SLE と診断。各種免疫抑制薬やステロイド大量療法に抵抗性で、意識障害、痙攣、血小板減少が進行。リツキシマブ投与により、意識障害、SLEDAI (37→10) が回復した。症例 4 は、20 歳女性。顔面紅斑、激しい頭痛と上肢～体幹の感覚異常を伴う CNS ループス、並びに、心筋障害 (EF<40) を伴う SLE と診断。シクロスポリンやステロイド大量療法に抵抗性で、上記臨床症候が進行。リツキシマブ投与により、頭痛、感覚異常、心機能が回復し、4 週間以内に SLEDAI (16→8) へ改善した。症例 5 は、34 歳女性。体幹、上肢、下肢の広汎な感覚異常を伴う CNS (及び脊髄) ループスを伴う SLE に対して、IV-CY やステロイド大量療法に抵抗性で、上記臨床症候が進行。リツキシマブ投与により、感覚異常は著明に回復し、4 週間以内に SLEDAI (16→5) へ改善した。なお、5 症例とも、末梢血 B 細胞はリツキシマブ投与後減少したが、重篤な副作用はなかった。

症例 1 では、CD20 抗体治療に低下した B 細胞数や IgG 値は 3 ヶ月以内に回復したが、

ds-DNA 抗体消失と尿蛋白陰性が継続され、ステロイド薬減量を可能とし、職場復帰した。現在、ベタメタゾン 0.5mg のみで経過観察とし、ds-DNA 抗体と尿蛋白は陰性を維持している。症例 2、3、4 では、CD20 抗体により末梢血 B 細胞数が一旦消失後に回復したが、CD19 陽性細胞上の CD40 の発現は低値を維持し、さらに、CD4 陽性 T 細胞上の CD40L や活性化抗原 CD69 の発現も低値を維持している。

### D. 考察

B 細胞は、自己反応性 T 細胞に対する抗原提示細胞として、また、T 細胞依存性自己抗体産生細胞として SLE の病態形成に中心的に関与する。昨年度、SLE 患者では、IL-4 産生性 B 細胞が CD40-CD40L 経路と Th2 サイトカインを介して活性化され、細胞死から免れて残存して抗体産生細胞へ分化する事、即ち、B 細胞の量的、質的異常が病態形成を担う事を報告した。SLE の臓器障害は、過剰な自己抗体産生により齎される免疫複合体によるもので、B 細胞特異的抗原である CD20 は、SLE の免疫是正の最適の標的となり得る。経験した 5 症例は、既存の治療に抵抗性の経過を辿った SLE であったが、CD20 抗体療法は、中枢神経系、腎、造血系の何れにも奏効し、長期的寛解状態をも得た。さらに、症例のリンパ球表面抗原解析から、B 細胞のみならず、CD4 陽性 T 細胞上の活性化表面抗原の発現低下も認め、CD20 抗体が、B 細胞制御を介して自己反応性 T 細胞による免疫異常の是正を齎し、自己免疫を一時的にリセットしている可能性も示唆された。欧米では、SLE や関節リウマチを対象に既に第 I 相臨床試験が開始されているが、B 細胞制御を介した自己免疫異常のリセットは、次世代の生物製剤が目指すものと考え、CD20 抗体を SLE 治療のブレークスルーとして期待し、第 I/II 相臨床試験

申請中である。

#### E. 結論

SLE の病態形成過程で、B 細胞は T 細胞に対する抗原提示細胞、並びに、自己抗体産生細胞として中心的な役割を担う。B 細胞に特異的に発現する CD20 抗原を標的とする CD20 抗体リツキシマブは、従来の治療に抵抗性の難治性 SLE の 5 症例に奏効し、寛解導入を齎した。その機序として、CD20 抗体が、B 細胞制御を介して自己反応性 T 細胞による免疫異常の是正を齎し、自己免疫をリセットしている可能性が示唆された。難治性 SLE に対して CD20 を標的とした新規治療がブレークスルーを齎せばと期待される。

#### F.健康危険情報

特になし。

#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

1. Saito K, Nawata M, Nakayamada S, Tokunaga M, Tsukada J, Tanaka Y. Successful treatment with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) of life-threatening refractory systemic lupus erythematosus with renal and central nervous system involvement. *Lupus* (2003) 12, 798-800
2. Fujii Y, Fujii K, Nakano K, Tanaka Y: Crosslinking of CD44 on human osteoblastic cells upregulates ICAM-1 and VCAM-1. *FEBS Letters* (2003) 539, 45-50
3. Nakayamada S, Saito K, Fujii K, Yasuda M, Tamura M, Tanaka Y:  $\beta$ 1 integrin-mediated signaling induces ICAM-1 and Fas and Fas-mediated apoptosis of rheumatoid synovial cells. *Arthritis Rheum* (2003) 48, 1239-1248
4. Yamamoto A, Fukuda A, Seto H, Miyazaki T, Kadono Y, Sawada Y, Nakamura I, Katagiri H, Asano T, Tanaka Y, Oda H, Nakamura K, Tanaka S. Suppression of arthritic bone destruction by adenovirus-mediated dominant-negative Ras gene transfer to synoviocytes and osteoclasts. *Arthritis Rheum* (2003) 48: 2682-2692
5. Nakayamada S, Okada Y, Saito K, Tamura M, Tanaka Y.  $\beta$ 1 integrin/focal adhesion kinase-mediated signaling induces intercellular adhesion molecule 1 and receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand on osteoblast and osteoclast maturation. *J Biol Chem* (2003) 278: 45368-45374
6. Nakayamada S, Saito K, Nakatsuka K, Nakano K, Tokunaga M, Sawamukai N, Tsujimura S, Nawata M, Tanaka Y. Efficacy of mizoribine treatment in patients with Sjögren's syndrome: an open pilot trial. *Mod Rheumatol* (2003) 13, 339-345
7. Nakatsuka K, Saito K, Kohshi K, Konda I, Tanaka Y. Severe skin ulceration associated with Wegener's granulomatosis: Successful treatment with hyperbaric oxygen and prostaglandin E<sub>1</sub>. *Mod Rheumatol* (2003) 13, 346-349
8. Nakayamada S, Okada S, Saito K, Tanaka Y. Etidronate prevents high-dose glucocorticoid-induced bone loss in premenopausal individuals with systemic autoimmune diseases. *J Rheumatol* (2004) 31, 163-6
9. Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tokunaga M, Tsujimura S, Nakatsuka K, Adachi T, Tanaka Y. Detection of *Pneumocystis carinii* by DNA amplification in patients with connective tissue diseases: Reevaluation of clinical features of *P. carinii* pneumonia in rheumatic diseases. *Rheumatology* (in press)
10. Nakano K, Okada Y, Saito K, Tanaka Y. Fibroblast growth factor-2 induces receptor activator of nuclear factor kappa B ligand expression and osteoclast maturation by binding

to heparan sulfate proteoglycan on rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum* (in press)

11. 田中良哉. SLE一病態に応じた急性期治療と維持治療の実際. *Medical Practice* (2003) **20**, 568-576
12. 田中良哉. リウマトイド血管炎. *診断と治療* (2003) **91**, 839-844
13. 田中良哉. サイトカイン・サイトカインレセプター. *日本内科学会雑誌* (2003) **92**, 1969-1976
14. 田中良哉. 全身性エリテマトーデス. *今月の治療* (2003) **11**, 1238-1245
15. 田中良哉. 生物製剤の使い方. *Mebio* (2003) **20**, 46-52
16. 田中良哉. リウマチ・膠原病. *内科* (2003) **92**, 1143-1148
17. 田中良哉, 齋藤和義, 名和田雅夫, 徳永美貴子, 塚田順一. 抗 CD20 抗体. *臨床免疫* (2003) **40**, 536-543
18. 田中良哉. 抗 CD20 抗体. *Current Therapy* (2004) **22**, 53-58
19. 名和田雅夫, 齋藤和義, 藤井幸一, 徳永美貴子, 塚田順一, 田中良哉. 抗 CD20 抗体療法. *内科* (2004) **93**, 319-325
20. 田中良哉. 免疫学的生物製剤をいかに膠原病に適應するか. *Molecular Medicine* (2004) **41**, 204-209
21. 田中良哉. CD20 を標的とした SLE 等の自己免疫疾患の分子治療. *医学のあゆみ* (2004) **208**, 349-354
22. 辻村静代, 田中良哉. 多剤耐性遺伝子を標的とする新規治療. *リウマチ科* (2004) **31**, 55-61

## 2. 学会発表

1. 田中良哉. リウマチ・膠原病 一治療の新展開一. 第 26 回日本医学会総会 (教育講演) 福岡, 平成 15 年 4 月
2. 田中良哉. ステロイド抵抗性疾患に対す

るシクロスポリン療法の戦略. 第 46 回日本腎臓学会学術総会 (ランチョンセミナー) 東京, 平成 15 年 5 月

3. 田中良哉. 生物製剤. 第 18 回日本臨床リウマチ学会総会 (シンポジウム) 札幌, 平成 15 年 10 月 2-3 日
4. 田中良哉. ステロイド性骨粗鬆症の薬物療法. 第 5 回日本骨粗鬆症学会総会 (シンポジウム) 福岡, 平成 15 年 10 月
5. 田中良哉. 免疫学的ツールの臨床応用. 第 31 回日本臨床免疫学会総会 (シンポジウム) 東京, 平成 15 年 10 月
6. 田中良哉. 免疫シグナルと続発性骨粗鬆症の病態機構. 第 18 回日本整形外科学会基礎学術集会 (教育研修講演) 北九州, 平成 15 年 10 月
7. 田中良哉. Targeting cell surface molecules in autoimmune diseases. 第 33 回日本免疫学会総会学術集会 (シンポジウム) 福岡, 平成 15 年 12 月
8. 田中良哉. 関節リウマチの新しい考え方ー抗サイトカイン療法によりブレイクスルーできるかー. 第 2 回大阪 RA フォーラム (特別講演) 大阪, 平成 16 年 2 月
9. 田中良哉. 抗リウマチ薬が効かなくなる原因とは? 厚生労働省「厚生科学研究公開シンポジウム」 東京, 平成 16 年 2 月
10. 田中良哉. 抗リウマチ薬. 平成 15 年度厚生労働省免疫アレルギー疾患予防・治療研究推進事業リウマチ・アレルギーシンポジウム Part 2 (シンポジウム) 東京, 平成 16 年 2 月

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Tokuhiro S, Yamada R, Chang X, Suzuki A, Kochi Y, Sawada T, Suzuki M, Nagasaki M, Ohtsuki M, Ono M, Furukawa H, Nagashima M, Yoshino S, Mabuchi A, Sekine A, Saito S, Takahashi A, Tsunoda T, Nakamura Y, <u>Yamamoto K.</u>	An intronic SNP in a RUNX1 binding site of SLC22A4, encoding an organic cation transporter, is associated with rheumatoid arthritis.	Nature Genet.	35:341-348, 2003.
Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhiro S, Sawada T, Suzuki M, Nagasaki M, Nakayama-Hamada M, Kawaida R, Ono M, Ohtsuki M, Furukawa H, Yoshino S, Yukioka M, Tohma S, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Nishioka Y, Sekine A, Iida A, Takahashi A, Tsunoda T, Nakamura Y, <u>Yamamoto K.</u>	Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis.	Nature Genet.	34:395-402, 2003.
Tahara H, Fujio K, Araki Y, Setoguchi K, Misaki Y, Kitamura T, <u>Yamamoto K.</u>	Reconstitution of CD8 <sup>+</sup> T cells by retroviral transfer of the TCR $\alpha\beta$ -chain genes isolated from a clonally expanded P815-infiltrating lymphocyte <sup>1</sup> .	J Immunol.	171:2154-2160, 2003.
<u>Yamamoto K.</u>	Pathogenesis of Sjögren's syndrome.	Autoimmun Rev.	2:13-18, 2003.
Yamada R, Suzuki A, Chang X, <u>Yamamoto K.</u>	Peptidylarginine deiminase type4: identification of a rheumatoid arthritis-susceptible gene.	Trends Mol Med.	9:503-508, 2003.
Sekiya T, Tsunemi Y, Miyamasu M, Ohta K, Morita A, Saeki H, Matsushima K, Yoshie O, Tsuchiya N, Yamaguchi M, <u>Yamamoto K, Tamaki K and Hirai K.</u>	Variations in the human Th2-specific chemokine TARC gene.	Immunogenetics.	54:742-745, 2003.
Suzuki K, Sawada T, Murakami A, Matsui T, Tohma S, Nakazono K, Takemura M, Takasaki Y, Mimori T, <u>Yamamoto K.</u>	High diagnostic performance of ELISA detection of antibodies to citrullinated antigens in rheumatoid arthritis.	Scand J Rheumatol.	32:197-204, 2003.
Li N, Nakamura K, Jiang Y, Tsurui H, Matsuoka S, Abe M, Ohtsuji M, Nishimura H, Kato K, Kawai T, Atsumi T, <u>Koike T, Shirai T, Ueno H, Hirose S.</u>	Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk: implications for the pathogenesis of lupus erythematosus.	Hum Mol Genet	13:2 171-179, 2004.
Shimizu C, <u>Koike T, Sawamura Y.</u>	Double pituitary adenomas with distinct histological features and immunophenotypes.	J Neuro Neurosurg Psychiatry	5.140. 2004.
Endo T, Nakao S, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Kuwano K, Obara M, <u>Koike T.</u>	Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonalgammopathy in a post -nonmyeloblastic stem cell transplant patient.	Ann Hematol.	83. 114-116. 2004.
Amengual O, Atsumi T, <u>Koike T.</u>	Specificities, properties, and clinical significance of antiprothrombin antibodies.	Arthritis Rheum	48(4):886-895 2003.
Hashimoto S, Shiroshita K, Sakurai T, Takeda A, Kawata T, <u>Koike T, Sato H, Ueda T.</u>	Unilateral renal cortical necrosis with contralateral hydronephrosis after surgery for uterus carcinoma.	Clin Exp Nephrol	2003;7 72.
Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, <u>Koike T, Yoshiki T.</u>	Functional alteration of peripheral CD25(+) CD4(+) immunoregulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases.	J Autoimmun	20:1 43-49 2003.
Kawakubo K, Endo T, Koizumi K, Nishio M, Fujimoto K, Sakai T, Sawada K, <u>Koike T.</u>	Granular lymphocyte proliferative disorder after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma.	Eur J Haematol	71:124-127 2003.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Kobayashi K, Kishi M, Atsumi T, Bertolaccini ML, Makino H, Sakairi N, Yamamoto I, Yasuda T, Khamashta MA, Hughes GR, <u>Koike T</u> , Voelker DR, Matsuura E.	Circulating oxidized LDL forms complexes with beta2-glycoprotein I: implication as an atherogenic autoantigen.	J Lipid Res	44(4):716-726 2003.
Koizumi K, Nakao S, Haseyama Y, Kato H, Ohi M, Motohara T, Endo T, Sawada K, <u>Koike T</u> .	Severe aplastic anemia associated with thymic carcinoma and partial recovery of hematopoiesis after thymectomy.	Ann Hematol	82(6):367-370 2003.
Oku K, Atsumi T, Furukawa S, Horita T, Sakai Y, Jodo S, Amasaki Y, Ichikawa K, Amengual O, <u>Koike T</u> .	Cerebral imaging by magnetic resonance imaging and single photon emission computed tomography in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement.	Rheumatology	2003;42(6) 773-777.
Sakai Y, Atsumi T, Itoh T, <u>Koike T</u> .	Uveitis, pancarditis, haemophagocytosis, and abdominal masses.	Lancet	361:9360-834 2003.
Shoenfeld Y, Krause I, Kvapil F, Sulkes J, Lev S, Landenberg P, Font J, Zaech J, Cervera R, Piette J, Boffa M, Khamashta M, Bertolaccini M, Hughes G, Youinou P, Meroni P, Pengo V, Alves J, Tincani A, Szegedi G, Lakos G, Sturfelt G, Jonsen A, <u>Koike T</u> , Sanmarcp M, Ruffatti A, Ulcova-gallova Z, Praprotnic S, Rozman B, Lorber M, Vriezman V.	Prevalence and Clinical Correlations of Antibodies Against Six $\beta$ 2-Glycoprotein-I-Related Peptides in the Antiphospholipid Syndrome.	J Clin Immunol	23(5):375-2003.
Wu R, Shoenfeld Y, Sherer Y, Patnaik M, Matsuura E, Gilburd B, <u>Koike T</u> , Peter JB.	Anti-idiotypes to oxidized LDL antibodies in intravenous immunoglobulin preparations-possible immunomodulation of atherosclerosis.	Autoimmunity	2003;36:2 91-97.
Matsumoto I, Lee D.M, Goldbach-Mansky R, <u>Sumida T</u> , Hitchon C.A, Schur P.H, Anderson R.J, Coblyn J.S, Weinblatt M.E, Brenner M, Duclos B, Pasquali J-L, El-Gabalawy H, Mathis D, and Benoist C.	Low prevalence of antibodies to glucose-6-phosphate isomerase in patients with rheumatoid arthritis and a spectrum of other chronic autoimmune disorders.	Arthritis Rheum	48:944-954, 2003.
Tsutsumi A, Ikegami H, Takahashi R, Murata H, Goto D, Matsumoto I, Fujisawa, T, and <u>Sumida T</u> .	Mannose binding lectin gene polymorphism in patients with type I diabetes.	Human Immunol.	64:621-624. 2003.
Yoshida K, Tsutsumi A, Onishi Y, Akimoto T, Murata H, and <u>Sumida T</u> .	T cell epitopes on prothrombin in patients with antiphospholipid syndrome.	Ann. Rheum. Dis.	62:1-2,2003.
Kojo S, Tsutsumi A, Goto D, and <u>Sumida T</u> .	Low expression of soluble CD1d gene in patients with rheumatoid arthritis.	J. Rheumatol.	30:2524-2528, 2003.
Shibuya K, Shirakawa J, Kameyama T, Honda S.-I, Tahara-Hanaoka S, Miyamoto A, Onodera M, <u>Sumida T</u> , Nakauchi H, Miyoshi H, and Shibuya A.	CD226 (DNAM-1) is involved in LFA-1 costimulatory signal for naïve T cell differentiation and proliferation.	J. Exp. Med.	198:1829-1839, 2003.
Arakaki R, Ishimaru N, Saito I, Kobayashi M, Yasui N, <u>Sumida T</u> , and Hayashi Y.	Development of autoimmune exocrinopathy resembling Sjogren's syndrome in adoptively transferred mice with autoreactive CD4 <sup>+</sup> T cells.	Arthritis Rheum.	48:3603-3609, 2003.
Ohnishi Y, Tsutsumi A, and <u>Sumida T</u> .	Antibodies to type II collagen and their association with HLA DR1 allele in Japanese patients with rheumatoid arthritis.	Mod. Rheumatol.	13:69-72, 2003.
Adachi Y, Tsutsumi A, Murata H, Takemura H, Chino Y, Takahashi R, Ebisuka T, and <u>Sumida T</u> .	Behcet's disease accompanied by myelodysplastic syndrome with trisomy 8: Two case reports and review of 15 Japanese cases.	Mod. Rheumatol	13:90-94, 2003.
Ohnishi Y, Tsutsumi A, Sakamaki T, and <u>Sumida T</u> .	T cell epitopes of type II collagen in HLA-DRB1*0101 or DRB1*0405-positive Japanese patients with rheumatoid arthritis.	Int. J. Mol. Med.	11:331-335, 2003.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Murata H, Adachi, Ebisuka T, Chino Y, Takahashi R, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Tsutsumi A, Akaza H, and <u>Sumida T.</u>	Reiter's syndrome following intravesical Bacillus bille de Calmette-Guérin treatment for superficial bladder carcinoma. Report of six cases.	Mod. Rheumatol.	In press.
Muraki Y, Tsutsumi A, Takahashi R, Suzuki E, Hayashi T, Chino Y, Goto D, Matsumoto I, Murata H, and <u>Sumida T.</u>	Polymorphisms of IL-1b gene in Japanese patients with Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus.	J. Rheumatol.	In press.
Tsutsumi A, Adachi Y, Murata H, Kojo S, Shibuya K, Nakamura H, and <u>Sumida T.</u>	GOS24, a gene that regulates TNF $\alpha$ production, is highly expressed in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis.	J. Rheumatol.	In press.
Koike F, J-i Satoh, T Kondo, S Miyake, T Yamamoto, M Kawai, S Kikuchi, K Nomura, K Yokoyama, K Ota, T Kanda, T Fukazawa, and <u>T Yamamura.</u>	Microarray analysis identifies IFN $\beta$ -regulated genes in multiple sclerosis.	J. Neuroimmunol.	139:109-118, 2003.
Bedoui S, S Miyake, Y Lin, K Miyamoto, S Oki, N Kawamura A, Beck-Sickinger S, von Hoersten, and <u>T Yamamura.</u>	Neuropeptide Y (NPY) suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: NPY Y <sub>1</sub> receptor-specific inhibition of autoreactive Th1 responses in vivo.	J. Immunol.	171:3451-3458, 2003.
Chiba A, S Oki, K Miyamoto, H Hashimoto, <u>T Yamamura</u> , and S Miyake:	Natural killer T-cell activation by OCH, a sphingosine truncated analogue of $\alpha$ -galactosylceramide, prevents collagen-induced arthritis.	Arthr. Rheumat.	50:305-313, 2004.
Illes Zs, M Shimamura, J Newcombe, N Oka, and <u>T Yamamura:</u>	Accumulation of V $\alpha$ 7.2J $\alpha$ 33 invariant T cells in autoimmune inflammatory lesions of the nervous system.	Int. Immunol.	16:223-230, 2004.
Bedoui S, N Kawamura, R.H Straub, R Pabst, <u>T Yamamura</u> , and S von Horsten. Review.	Relevance of neuropeptide Y for the neuroimmune crosstalk.	J.Neuroimmunol.	134:1-11, 2003.
<u>山村 隆.</u>	NKT細胞と自己免疫：調節性 CD4 <sup>+</sup> NKT細胞の役割.	Molecular Medicine	40:562-568, 2003.
<u>山村 隆.</u>	NKT細胞を介した自己免疫疾患制御.	炎症と免疫	11:616-622, 2003.
佐藤 準一, <u>山村 隆.</u>	多発性硬化症治療への新しい展望.	最新医学	58:1926-1938, 2003.
長山成美, <u>山村 隆.</u>	抗コレステロール薬による Th2 優位の誘導 -MS の治療への応用は可能か? -.	臨床免疫	40:205-208, 2003.
<u>山村 隆.</u>	近未来の多発性硬化症治療.	BIO Clinica	18:1069-1073, 2003.
<u>山村 隆</u> , 三宅幸子.	実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に対する NKT細胞の機能制御治療とその応用.	Molecular Medicine 臨時増刊号「免疫 2004」(岸本忠三編集), 中山書店 (東京).	pp 305-311, 2003.
Nishio J, Suzuki M, Nanki T, Miyasaka N and <u>Kohsaka H.</u>	Development of TCRB CDR3 length repertoire of human lymphocytes.	Int Immunol	16, 423-431, 2004.
Suri A, Shimizu J, Katz J.D., <u>Sakaguchi S.</u> , Unanue E.R, and Kanagawa O.	Regulation of autoimmune diabetes by non-islet-specific T cells - a role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. Eur.	J. Immunol.	34:447-454, 2004.
Kajitara F.S, Sun T, Nomura K, Izumi T, Ueno Y, Bando N, Kuroda H, Han Yi Li A, Matsushima Y, Takahama S, <u>Sakaguchi T</u> , Mitani and M.	Matsumoto. 2004. NF- $\kappa$ B-inducing kinase establishes self-tolerance in a thymic-stroma dependent manner.	J. Immunol.	172:2067-2075, 2004.
Hori S, and <u>Sakaguchi S.</u>	Foxp3, a critical regulator of regulatory T cell development and function. Microbes and Infection.		In press.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Fehervari Z. and <u>Sakaguchi S.</u>	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells. In "Measuring Immunity" eds. Michael Lotze and Angus Thompson, Elsevier.		In press.
Choi B.K., Bae J.S., Choi E.M., Kang, W. J., <u>Sakaguchi S.</u> , Vinay D.S., and Kwon B.S.	2003. 4-1BB-dependent inhibition of immunosuppression by activated CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> T cells. J. Leukoc. Biol.		In press.
Zhang X, Koldzix D.J., Izikson L, Reddy J, Nazareno R.F., <u>Sakaguchi S.</u> , Kuchroo V.K., and Weiner H.L.	IL-10 is involved in the suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells.	Int. Immunology.	16:1-8, 2004.
Fehervari Z. and <u>Sakaguchi S.</u>	Development and function of CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells. Curr. Opinion in Immunol.		In press.
Fehervari Z. and <u>Sakaguchi S.</u>	A paragon of self-tolerance:Regulatory T cells and the control of immune responses.	Arthritis Res. Ther.	6:19-25, 2004.
<u>Sakaguchi S.</u>	The origin of FOXP3-expressing CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells: thymus or periphery.	J. Clin. Invest.	112:1310-1312, 2003.
Sakaguchi N, Takahashi T, Hata H, Nomura T, Tagami T, Yamazaki S, Sakihama T, Matsutani T, Negishi I, Nakatsuru S, and <u>Sakaguchi S.</u>	Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice.	Nature.	426:454-60, 2003.
<u>Sakaguchi S.</u>	Naturally arising CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses.	Ann. Rev. Immunol.	In press.
<u>Sakaguchi S.</u>	Taming transplantation by regulatory T cells.	Nature Medicine	9:1117-1118, 2003.
Hori S, Takahashi T, and <u>Sakaguchi S.</u>	Control of autoimmunity by natural regulatory T cells.	Adv. Immunol.	81:329-369, 2003.
Takahashi T, and <u>Sakaguchi S.</u>	Naturally arising CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells in maintaining immunologic self-tolerance and preventing autoimmune disease.	Curr. Mol. Med.	3:693-706, 2003.
<u>Sakaguchi S.</u>	Control of immune responses by naturally arising CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells.	J. Exp. Med.	197:397-401, 2003.
Hori S, Nomura T, and <u>Sakaguchi S.</u>	Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3.	Science.	299:1057-1061, 2003.
Wood K, and <u>Sakaguchi S.</u>	Regulatory T cells in transplantation.	Nature Rev. Immunol.	3:199-210, 2003.
<u>Sakaguchi S.</u>	Regulatory T cells: mediating compromises between host and parasite.	Nature Immunol.	4: 10-11, 2003.
Takahashi T, and <u>Sakaguchi S.</u>	The role of regulatory T cells in controlling immunologic self-tolerance.	Int. Rev. Cytol.	225:1-32, 2003.
<u>Sakaguchi S.</u> , Hori S, Fukui Y, Sasazuki T, Sakaguchi N, and Takahashi T.	Thymic generation and selection of CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells: Implications of their broad repertoire and high self-reactivity for the maintenance of immunologic self-tolerance.	Novartis Foundation Symposium.	252:6-16; discussion 16-23, 106-14, 2003.
Wood K.J., H, Ushigome M, Karim A, Bushell H, S and <u>Sakaguchi S.</u>	Regulatory T cells in transplantation.	Novartis Foundation Symposium.	252:177-88; discussion 188-93, 203-10, 2003
Nakayamada S, Saito K, Nakatsuka K, Nakano K, Tokunaga M, Sawamukai N, Tujimura S, Nawata M, <u>Tanaka Y.</u>	Efficacy of mizoribine treatment in patients with Sjogren's syndrome: an open pilot trial.	Mod Rheumatol (2003)	13,339-345.
Nakatsuka K, Saito K, Kohshi K, Konda I, <u>Tanaka Y.</u>	Severe skin ulceration associated with Wegener's granulomatosis: successful treatment with hyperbaric oxygen and prostaglandin E <sub>1</sub> .	Mod Rheumatol (2003)	13,346-349.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Tanaka Y, Okada Y, Nakamura T.	Inter-and intracellular signaling in secondary osteoporosis.	Bone Miner Metab (2003)	21,61-66.
Fujii Y, Fujii K, Nakano K, Tanaka Y.	Crosslinking of CD44 on human osteoblastic cells upregulates ICAM-1 and VCAM-1.	FEBS Letters (2003)	539,45-50.
Tabata T, Mine S, Kawahara C, Okada Y, Tanaka Y.	Monocyte chemoattractant protein-1 induces scavenger receptor expression and monocyte differentiation into foam cells.	Biochem Biophys Res Commun (2003)	305,380-385.
Saito K, Nawata M, Nakayamada S, Tokunaga M, Tsukada J, Tanaka Y.	Successful treatment with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) of life-threatening refractory systemic lupus erythematosus with renal and central nervous system involvement.	Lupus (2003)	12,798-800.
Nakayamada S, Okada Y, Saito K, Tamura M, Tanaka Y.	$\beta$ 1 Integrin/Focal Adhesion Kinase-mediated Signaling Induces Intercellular Adhesion Molecule 1 and Receptor Activator of Nuclear Factor $\kappa$ B Ligand on Osteoblasts and Osteoclast Maturation.	J Biol Chem (2003)	278,45368-45374.
Nakayamada S, Saito K, Fujii K, Yasuda M, Tamura M, Tanaka Y.	$\beta$ 1 integrin-Mediated Signaling Induces Intercellular Adhesion Molecule 1 and Fas on Rheumatoid Synovial Cells and Fas-Mediated Apoptosis.	Arthritis Rheum (2003)	48, 1239-1248.
Tamura M, Osajima A, Nakayamada S, Anai H, Kabashima N, Kanegai K, Ota T, Tanaka Y, Nakashima Y.	High glucose levels inhibit focal adhesion kinase-mediated wound healing of rat peritoneal mesothelial cells.	Kidney Int (2003)	63, 722-731.
Mine S, Fujisaki T, Kawahara C, Tabata T, Iida I, Yasuda M, Yoneda T, Tanaka Y.	Hepatocyte growth factor enhances adhesion of breast cancer cells to endothelial cells in vitro through up-regulation of CD44.	Exp Cell Res (2003)	288, 189-197.
Yamamoto A, Fukuda A, Seto H, Miyazaki T, Kadono Y, Sawada Y, Nakamura I, Katagiri H, Asano T, Tanaka Y, Oda H, Nakamura K, Tanaka S.	Suppression of arthritic bone destruction by adenovirus-mediated dominant-negative Ras gene transfer to synoviocytes and osteoclasts.	Arthritis Rheum (2003)	48:2682-2692
Nakatsuka K, Saito K, Kohshi K, Konda I, Tanaka Y.	Severe skin ulceration associated with Wegener's granulomatosis: Successful treatment with hyperbaric oxygen and prostaglandin E <sub>1</sub> .	Mod Rheumatol (2003)	13, 346-349.
Tanikawa T, Okada Y, Azuma T, Fukushima A, Kawahara C, Tanaka Y.	Adult-onset idiopathic progressive acro-osteolysis with proximal symphalangism.	J Bone Miner Res (2004)	19, 165-167.
Nakayamada S, Okada S, Saito K, Tanaka T.	Etidronate prevents high-dose glucocorticoid-induced bone loss in premenopausal individuals with systemic autoimmune diseases.	J Rheumatol (2004)	31, 163-6.
Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tokunaga M, Tsujimura S, Nakatsuka K, Adachi T, Tanaka Y.	Detection of Pneumocystis carinii by DNA amplification in patients with connective tissue diseases: Reevaluation of clinical features of P. carinii pneumonia in rheumatic diseases.	Rheumatology	In press.
Okada Y, Tsukada J, Nakano K, Tonai S, Mine S, Tanaka Y.	Macrophage inflammatory protein-1 induces hypercalcemia in adult T-cell leukemia.	J Bone Miner Res	In press.
Kawahara C, Okada Y, Tanikawa T, Fukushima A, Misawa H, Tanaka Y.	Severe hypercalcemia and hypernatremia associated with calcipotriol for treatment of psoriasis.	J Bone Miner Metabolism	In press.
Nakano K, Okada Y, Saito K, Tanaka Y.	Fibroblast growth factor-2 induces receptor activator of nuclear factor kappa B ligand expression and osteoclast maturation by binding to heparan sulfate proteoglycan on rheumatoid synovial fibroblasts.	Arthritis Rheum	In press.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Okada Y, Tanaka Y.	Immune signals in the context of secondary osteoporosis.	Histol Histopathol	In press.
中山田真吾, 齋藤和義, 辻村静代, 中塚敬輔, 中野和久, 徳永美貴子, 田中良哉, 大田俊行.	急速進行性の中樞神経症状を呈した Sjogren 症候群の一例.	九州リウマチ (2003)	22,87-92.
中山田真吾, 辻村静代, 齋藤和義, 田中良哉.	DMARD 併用療法の短期的・長期的効果.	臨床リウマチ (2003)	15,207-212.
田中良哉.	膠原病検査の進歩と診断・治療への応用 サイトカイン・サイトカインレセプター.	日本内科学会雑誌(2003)	92,69-76.
田中良哉.	新しいリウマチ薬と治療ガイドライン 生物学的製剤の使い方.	Mebio(2003)	20,46-52.
田中良哉.	リウマチ・膠原病.	内科(2003)	92,1143-1148.
田中良哉.	SLE-病態に応じた急性期治療と維持治療の実際.	Medical Practice(2003)	20,568-576.
田中良哉.	リウマトイド血管炎.	診断と治療(2003)	91,839-844.
田中良哉.	注射用ステロイド剤のパルス療法.	薬局(2003)	54,1963-1969.
田中良哉.	ステロイド性骨粗鬆症.	アレルギー・免疫 (2003)	10,1471-1478.
田中良哉.	全身性エリテマトーデス.	今月の治療 (2003)	11,1238-1245.
田中良哉, 齋藤和義, 名和田雅夫, 徳永美貴子, 塚田順一.	抗 CD20 抗体.	臨床免疫(2003)	40,536-543.
田中良哉.	抗 CD20 抗体.	Current Therapy(2004)	22,53-58.
名和田雅夫, 齋藤和義, 藤井幸一, 徳永美貴子, 塚田順一, 田中良哉.	抗 CD20 抗体療法.	内科(2004)	93,319-325.
田中良哉.	免疫学的生物製剤をいかに膠原病に適応するか.	Molecular Medicine(2004)	41,204-209.
田中良哉.	CD20 を標的とした SLE 等の自己免疫疾患の分子治療.	医学のあゆみ (2004)	208,349-354.
辻村静代, 田中良哉.	多剤耐性遺伝子を標的とする新規治療.	リウマチ科(2004)	31,55-61.
田中良哉.	混合性結合組織病.	臨床と研究(2004)	81,63-66.

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名・出版地	出版年・ページ
田中良哉.	結節性多発動脈硬化と類縁疾患	高久史歴編	外来診療の全て	メジカルビュー社	896-899 頁, 2003.
田中良哉.	SLE 病態に応じた急性期治療と維持治療の実際.		Medical Practice.	分光堂	567-576 頁, 2003.
田中良哉.	ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症: AIDS 及び AIDS に関連した障害: AIDS 及び AIDS に関連した障害: 病態生理及び病原性, HIV に対する免疫応答, HIV 感染の診断と臨床検査.	黒川 清, 福井次矢	ハリソン内科学	メディカルサイエンスインターナショナル	1907-1925 頁, 2003.
田中良哉.	可溶性 VCAM-1.	櫻林郁之介, 熊坂一成編	新版検査項辞苑	医歯薬出版	918-918 頁, 2003.
田中良哉.	難治性 RA 合併症の早期診断と治療リウマトイド血管炎.		診断と治療	診断と治療社	839-844 頁, 2003.
田中良哉, 辻村静代, 河野公俊.	関節リウマチと薬剤抵抗性の獲得機序とその制御.	岸本忠三編	Molecular Medicine (臨時増刊号) 免疫 2004.	中山書店	343-349 頁, 2003.

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名・出版地	出版年・ページ
田中良哉	機能性膜分子とCD分類. サイトカイン.	黒川 清, 松澤佑次, 北 徹, 貫 和敏, 永井良三, 千葉 勉, 井廻道夫, 岡芳知編	内科学 (第2版).	文光堂	30-35 頁, 2003.
田中良哉	関節リウマチ.	山口 徹, 北原光夫編	今日の治療指 針 2003 年版.	医学書院	540-542 頁, 2003
田中良哉	関節リウマチ.	狩野庄吾, 中川武正編	アレルギー・ リウマチ・膠原 病の最新医療	先端医療技術研究 所	267-272 頁, 2003.
田中良哉	総論 (課題と展望).	狩野庄吾, 中川武正編	アレルギー・ リウマチ・膠原 病の最新医療	先端医療技術研究 所	382-387 頁, 2003.
田中良哉	血清反応陰性脊椎関節炎.	杉本恒明, 小俣政男, 水野美邦編	内科学第 8 版	朝倉書店	1224-1226 頁, 2003.
田中良哉	炎症細胞遊走の分子機構.	工藤翔二, 土屋了介, 金沢 実, 大田 健編	呼吸器	中外医学社	22-27 頁, 2004.
田中良哉	膠原病・リウマチ性疾患に起 因する骨粗鬆症.	折茂 肇編	骨粗鬆症-基 礎・臨床研究 の新しいパラダ イム.	日本臨床社	677-682 頁, 2004.