

図 1. 未免疫 Dsg3^{-/-}脾 T 細胞の ex vivo における各リコンビナント mDsg3 断片に対する反応性

表 1. 未免疫 Dsg3^{-/-}脾細胞から 2 回の抗原刺激により得られた T 細胞株の各リコンビナント mDsg3 断片に対する反応性

T-STIM濃度	0%	0.5%	1.0%	2.0%	5.0%
例数	N=4	N=16	N=18	N=18	N=14
mDsg3-1/9	0	0	1	1	2
mDsg3-2/9	0	0	4	2	3
mDsg3-3/9	0	0	1	0	2
mDsg3-4/9	1	1	1	4	4
mDsg3-5/9	1	0	0	1	3

天疱瘡自己抗体病的活性の in vitro デジタル測定法の開発

分担研究者 田中 勝 慶應義塾大学医学部皮膚科学 助教授

研究要旨 尋常性天疱瘡患者血中には、細胞間接着因子であるデスモグレイ
ン 3 (Dsg3) に対する抗体が存在し、その抗体が表皮細胞接着を阻害し、水疱形
成を誘導することが明らかにされている。病勢の指標として、蛍光抗体法間接
法や ELISA 法で測定された抗体価が使用されている。しかしながら、これら
の方法で得られる抗体価は、個々の抗体の細胞間接着阻害能を直接示す値では
ない。本研究の目的は、天疱瘡患者血清中自己抗体の細胞間接着阻害活性を測
定する in vitro の検査法を開発することである。正常ヒト表皮由来ケラチノサ
イトをシート状に培養し、抗 Dsg3 モノクローナル抗体、あるいは患者血清を
添加後、細胞シートをピペッティングによる機械的ストレスを加え、分断され
た細胞集塊数を計測し、細胞接着阻害活性の指数(Dissociation Score : DS)と
した。天疱瘡モデルマウスより単離されたモノクローナル抗 Dsg3 抗体を用い
て検討したところ、明らかに病的活性を持つ抗体 AK23 で処理をした細胞シー
トは、多数の細胞塊に分断されたのに対し、マウスモデルで明らかな病的活性
を示さない抗体 AK20 で処理した細胞シートは分断されなかった。次に、患者
血清を用いて検討したところ、活動期の天疱瘡患者血清 (n=10) の平均 DS は
42.2、正常人血清 (n=5) の平均 DS は、15.6 であり、有意に患者血清は高い
DS 値を示した。さらに、Dsg3 ELISA 値が同程度で、活動期の患者血清 (n=3)、
寛解期の患者血清 (n=3) を比較すると、活動期の患者血清において、DS 値は、
27~60 と高値を示したのに対し、寛解期の患者血清における DS 値は 10~20
と低値を示し ELISA 値よりも病勢を正確に反映する値が得られた。以上より、
本検査法は、天疱瘡自己抗体の細胞間接着阻害活性を測定する簡便で客観的な
測定法となると考えられた。

共同研究者

石井 健 東京電力病院
慶應義塾大学医学部
天谷雅行 慶應義塾大学医学部専任講師
白方裕司 愛媛大学医学部皮膚科助手
橋本公二 愛媛大学医学部皮膚科教授

天疱瘡は、難治性疾患であり、治療上、
病勢を把握することが非常に重要である。
病勢の評価は、現在のところ、臨床症状の
ほかに、蛍光抗体法間接法やリコンビナ
ント Dsg3 を用いた ELISA 法で測定された
抗体価が使用されている。しかしながら、
これらの方法で得られる抗体価は、個々の
抗体の細胞間接着阻害能を直接示す値では
なく、かならずしも、重症度を反映しない。

本研究の目的は、培養細胞を用いて、
天疱瘡患者血清中に存在する自己抗体の細
胞接着阻害活性を測定する in vitro の検査
法を開発することである。

A. 研究目的

尋常性天疱瘡は、抗体を介する自己免疫
性水疱疾患であり、その自己抗原は カド
ヘリン型細胞接着因子であるデスモグレイ
ン 3 (Dsg3) である。また、その自己抗体
が直接病的活性を持ち、水疱形成を誘導す
ることが明らかにされている。

B. 研究方法

Dissociation Assay 法

デスモグレイン3とデスモグレイン1を主に発現している正常ヒト表皮由来の培養ケラチノサイトを使用した(図1)。培養ケラチノサイトをコンフルエントの状態まで培養した後、カルシウムを含む培養液に換えることにより、細胞間接着能を誘導し、細胞をシートの状態にする。各種血清、抗体を加え、一晚静置する。実験の二時間前に、exfoliative toxin Aを加えることによりデスモグレイン1を分解する。dispaseを用いて細胞シートをdishより剥離し、さらに、ピペッティングにより機械的ストレスを与えることにより、細胞シートを分断する。

分断された細胞塊の数を細胞接着阻害活性の指数(Dissociation Score: DS)として使用した。細胞塊数の計測は、細胞をホルマリン固定し、ピオクタニン染色した後、デジタルカメラで画像を撮影し、画像をコンピュータに取り込み、画像解析ソフトウェアを使用して、分断された細胞塊の数を計測した。

C. 研究結果と考察

この検査法が、抗デスモグレイン3抗体のうち、病的活性を持つ抗体のみを検出することができるかどうか検討した。モノクローナル抗Dsg3抗体AK7、AK20、AK23の3種類を用いた。AK7は、ヒトDsg3 ELISAで陰性を示し、ヒトDsg3への反応性を示さない抗体、AK20は、Dsg3 ELISA陽性であるが、新生仔マウスに抗体を投与しても水疱形成を示さなかった抗体である。また、AK23はDsg3 ELISA陽性で、しかも、病的活性をもつ抗体である。抗体を加えない細胞シートにおいては、細胞シートはほとんど分断されなかった。ヒトDsg3抗体と反応性を有さないAK7、病的活性を持たない抗体AK20を加えた細胞シートは、抗体を加えていない群と同様にほとんど細胞シートは分断されなかった。一方、病的活性のあるAK23を加えた群では、dose dependentに細胞シートが分断されているのが認められた。この結果より、

この検査法は、抗Dsg3抗体のなかでも病的活性を持つ抗体のみを検出できることが明らかになった。(図2)

さらに、天疱瘡患者血清を用いて、この検査法で検討した。活動期の尋常性天疱瘡(PV)患者血清10例、正常人血清を5例を使用し、DS値を比較した。正常人血清においては、DS値の平均値は15.6を示したのに対し、PV血清の平均DS値は、42.5と有意に高値を示し、DS値がより高い値を示した(図3)。患者血清においても、血清中の細胞接着阻害活性を検出できると考えられた。

次に、この検査法のDS値が、ELISAのIndex値と比較して天疱瘡自己抗体の病的活性をより反映するかどうかを検討した。検討した血清は、Dsg3 ELISA index値が約100程度の血清で、活動期の患者血清3例、寛解期の患者血清3例を比較した。ELISA値が同等程度にもかかわらず、活動期の患者血清において、DS値が27-50と高値を示したのに対し、寛解期の患者血清においては、DS値は10-19と低値を示し、ELISA値よりも病勢を正確に反映する値が得られた。(図4)

D. 結論

培養ケラチノサイトを用いて、天疱瘡自己抗体の細胞間接着阻害能を測定する検査法を開発した。この検査法は、病的活性を持つ抗Dsg3抗体のみの接着阻害能を測定することが可能であった。その測定値は、ELISA法の抗体価よりも正確に天疱瘡患者の重症度を反映していた。ケラチノサイトを用いたdissociation assayは、天疱瘡自己抗体の病的活性を測定する簡便で客観的な方法である。この検査法は、デスモグレインを介する細胞接着、天疱瘡自己抗体による水疱形成のメカニズムを探る上で良い手段となりうると思われる。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表（平成14年度）

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

Ishii K, Harada R, Matsuo I, Shirakata Y, Hashimoto K, Amagai M. In vitro keratinocyte dissociation assay to evaluate blister-inducing activity of pemphigus IgG autoantibodies. International Investigative

Dermatology 2003, Miami Beach, Florida 2003

G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

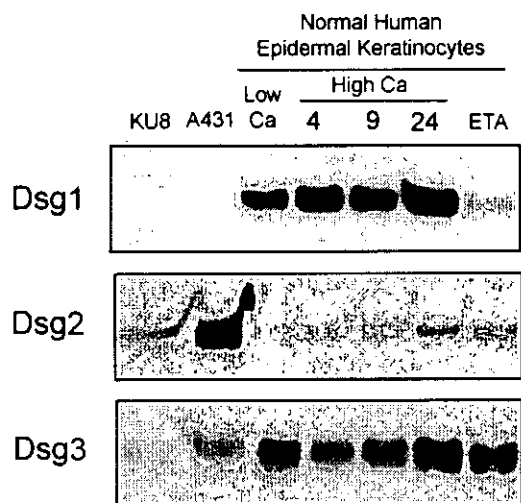


図1. 培養ケラチノサイトのデスモグレインアイソフォームの発現パターン
 低濃度カルシウムで培養したケラチノサイト、また、1.2mM カルシウム入りの培養液に交換した後 3、6、24 時間後のケラチノサイトの細胞抽出液を作成した。7.5% SDS PAGE の後、抗 Dsg1 抗体 (18D4)、抗 Dsg2 抗体 (6D8)、抗 Dsg3 抗体 (5H10) を用いてイムノブロットを施行した。培養ケラチノサイトにおいては、Dsg1、Dsg3 を主に発現しているのに対し、上皮癌由来の培養細胞 KU8、A431 細胞では、Dsg2 を主に発現している。また、Exfoliative Toxin A (ETA) で処理をすることにより Dsg1 を特異的に分解し、Dsg3 のみを強く発現するケラチノサイトを得ることが可能となった。

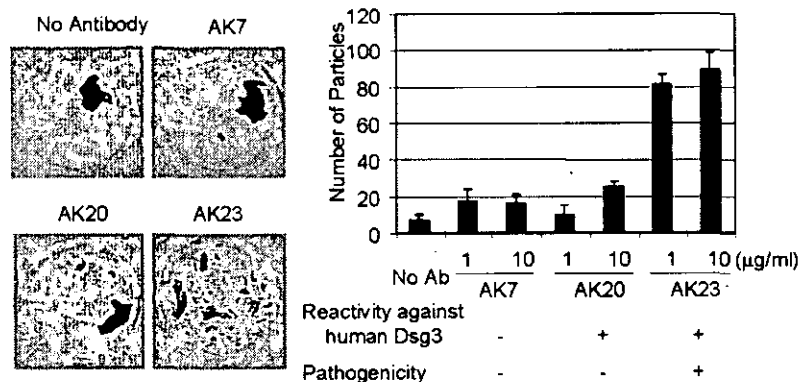
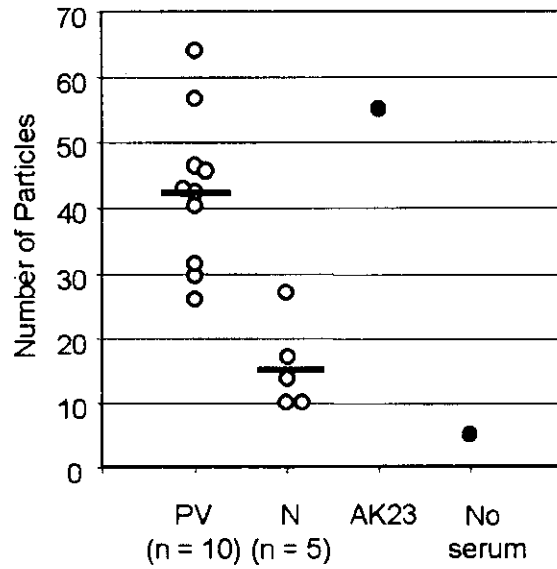


図2. モノクローナル抗 Dsg3 抗体の細胞接着阻害活性の測定。
 モノクローナル抗 Dsg3 抗体 AK7, AK20, AK23 の 3 種類を用いて、方法に欄に示す如く Dissociation Assay を施行した。(AK7 : Dsg3 ELISA で陰性を示し、ヒト Dsg3 への反応性を示さない抗体、AK20 : Dsg3 ELISA 陽性であるが、新生仔マウスに抗体を投与しても病的活性を示さなかった抗体、AK23 : Dsg3 ELISA 陽性で、しかも、病的活性をもつ抗体。) AK23 で処理した細胞シートのみ、用量依存的に細胞シートがばらばらに分裂するのが認められた。



7

図3. 尋常性天疱瘡患者血清と正常人血清の Dissociation Score(DS)の比較。活動期の尋常性天疱瘡患者 (PV) 血清 10 例、正常人血清 5 例を Dissociation Assay で測定。PV 患者の DS の平均値は正常人血清の DS の平均値よりも有意に高値を示した。

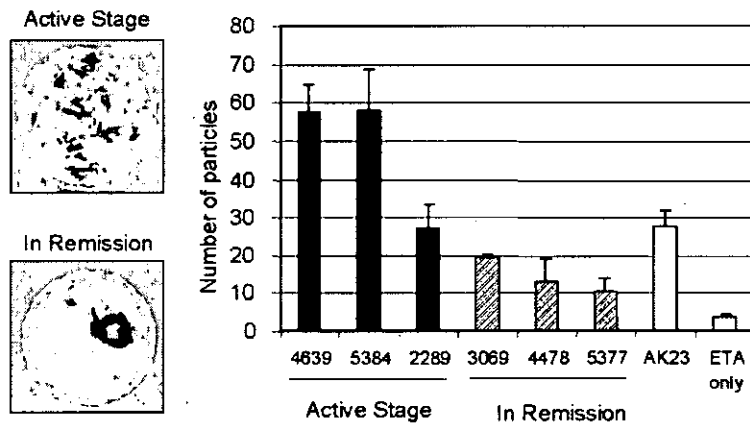


図4. Dissociation Assay の測定値は、天疱瘡自己抗体の病的活性を反映する。Dsg3 ELISA の index 値が約 100 の抗体価を持つ尋常性天疱瘡患者 6 例を Dissociation Assay で検討した。活動期の血清においては、DS 値は高値を示し、寛解期の血清においては、DS 値は低値を示した。

新規デスモグレイン Dsg4 に対する天疱瘡血清の反応性についての検討

分担研究者 天谷雅行 慶應義塾大学医学部皮膚科学 専任講師

研究要旨 デスモグレイン (Dsg) はデスモゾームにあるカドヘリン型接着蛋白で、角化細胞間の接着に重要な役割を持つ。最近、18 番染色体上に存在する Dsg gene cluster の遺伝子解析の結果、既報告の 3 種のアイソフォーム (Dsg1, Dsg2, Dsg3) に加え、新たなアイソフォーム Dsg4 が同定された。本研究ではヒト Dsg4 組換え蛋白 (hDsg4-His) を用い、天疱瘡における血清の Dsg4 との反応性および Dsg4 の水疱形成への関与について検討した。hDsg4-His を基質とした免疫沈降法の結果、抗 Dsg1 抗体を有する粘膜皮膚型 PV 血清ならびに PF 血清の大部分が hDsg4-His を認識した。一方、抗 Dsg1 抗体を持たない粘膜優位型 PV 血清は hDsg4-His を認識しなかった。興味深いことに、抗 Dsg1 抗体を組換え Dsg1 による免疫吸着法にて除去すると、血清の Dsg4 との反応性は完全に消失した。一方、抗 Dsg4 抗体を除去しても、血清の Dsg1 との反応性に著変はなかった。以上の結果より、天疱瘡患者血清中には Dsg4 のみを認識する自己抗体は存在せず、抗 Dsg1 抗体の一部が Dsg4 と交差反応することが示された。さらに、Dsg4 は毛嚢上皮に高発現していると報告されており、原因不明とされている脱毛症の自己抗原の一つである可能性がある。Dsg4 ノックアウトマウスを用いた自己免疫性脱毛症モデルマウスの作成により、現在不明である自己免疫性脱毛症の病態解明に向け、大きく前進することが期待される。

共同研究者

長坂 武 慶應義塾大学医学部皮膚科助手
西藤公司 慶應義塾大学医学部皮膚科特別
研究員

A. 研究目的

本研究の目的はヒト Dsg4 組換え蛋白を用い、天疱瘡における血清の Dsg4 との反応性について検討することである。さらに、Dsg4 が毛嚢特異的デスモグレインである事実を利用して、Dsg4^{-/-}マウスの脾細胞移植による自己免疫性脱毛モデルマウスの作成ための基礎実験を行う。

B. 研究方法

免疫沈降法による患者血清と組換え Dsg4 の反応性を検討した。

ヒト頭皮から抽出した mRNA を鋳型として RT-PCR を行い、Dsg4 細胞外領域をコードする cDNA を単離した。この cDNA を用いてバキュロウイルス発現系で Dsg4 組換え蛋白 (hDsg4-His) を作成した。

血清と Dsg4 との反応性の有無に関して、落葉状天疱瘡 (PF) 血清 20 例、粘膜皮膚型尋常性天疱瘡 (PV-MC) 血清 19 例ならびに粘膜優位型尋常性天疱瘡 (PV-M) 血清 16 例を用いて検討した。また組換え Dsg 蛋白を用いた免疫吸着法にて自己抗体を除去後、血清と Dsg との反応性についても検討した。

C. 研究結果

hDsg4-His を基質とした免疫沈降法の結果、抗 Dsg1 抗体を有する粘膜皮膚型 PV 血清 19 例中 13 例 (68.4%) ならびに PF 血清 20 例中 17 例 (85.0%) が hDsg4-His を認識した。一方、抗 Dsg1 抗体を持たない粘膜優位型 PV 血清 16 例全て (0%) が hDsg4-His を認識しなかった (図 1)。さらに抗 Dsg1 抗体を組換え Dsg1 による免疫吸着法にて除去すると、全ての血清の Dsg4 との反応性は完全に消失した (n=30) (図 2a, c)。一方、抗 Dsg4 抗体を除去しても、血清の Dsg1 との反応性に著変

はなかった (n=11) (図 2b、d)。

D. 考察

抗 Dsg1 抗体を有する PF、PV-MC 患者血清の大部分が Dsg4 を認識することが判明した。そして天疱瘡患者血清中に Dsg4 のみを特異的に認識する自己抗体は存在せず、抗 Dsg1 抗体の一部が Dsg4 と交差反応することが示された。Dsg 分子のアミノ酸配列を比較すると、全体で Dsg4 は Dsg1 と 41% の相同性がある。一方、抗原抗体反応に重要なエピトープが存在すると考えられる N 末端側の EC1 領域に注目すると、Dsg4 は Dsg1 と 82% の相同性を示す。特にデスモグレインの接着機能に重要と考えられている、トリプトファンの接着面のドナーであると予測されるアミノ酸は Dsg1 と Dsg4 とでは 15 中 14 アミノ酸と高率に保存されている。しかしながら本研究に示したように、患者血清中に Dsg4 のみを認識する自己抗体はなかった。よって我々は Dsg4 が天疱瘡の自己抗原ではなく、抗 Dsg1 抗体の一部が Dsg4 と交差反応すると考えた。

Dsg4 は毛嚢上皮に高発現していると報告されており、原因不明とされている脱毛症の自己抗原の一つである可能性がある。Dsg4 ノックアウトマウスは“lanceolate hair (槍さき状の毛髪)”を特徴とする脱毛の表現型を持つと報告されている。既に

我々は免疫した Dsg3 ノックアウトマウスの脾細胞を免疫不全マウスに移植することにより天疱瘡モデルマウスの作成に成功しているが、同様の手法により Dsg4 ノックアウトマウスを用いて自己免疫性脱毛症モデルマウスを作成し、さらなる Dsg4 の機能解析を予定している。

E. 結論

本研究で天疱瘡患者血清中には新しいデスモグレイン Dsg4 のみを認識する自己抗体は存在せず、抗 Dsg1 抗体の一部が Dsg4 と交差反応することが明らかにされた。今後、Dsg4 ノックアウトマウスを用いて自己免疫性脱毛症モデルマウスを作成することにより、さらなる Dsg4 の機能解析が可能となる。これらは原因不明の脱毛症のお病態解明、種々の免疫抑制治療法の評価などにつながり重要であると考えられる。

F. 研究発表

学会発表

西藤公司、長坂武、大田孝幸、Neil V Whittock、西川武二、天谷雅行
天疱瘡および膿痂疹の病態におけるデスモグレイン 4 の関与の検討
第 10 回分子皮膚科学フォーラム
京都、2003 年 11 月 21 日

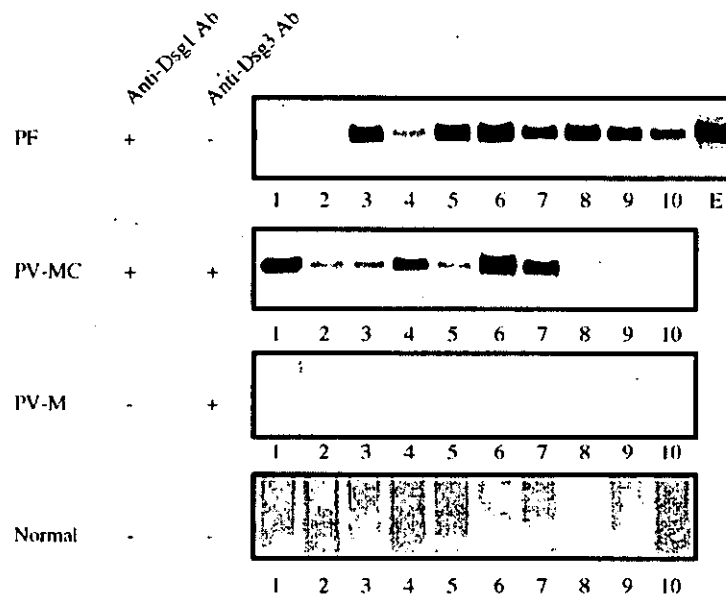


図1 免疫沈降法による天疱瘡患者血清と Dsg4 の反応性に関する検討

抗 Dsg1 抗体を有する粘膜皮膚型 PV 血清 19 例中 13 例 (68.4%) ならびに PF 血清 20 例中 17 例 (85.0%) が hDsg4-His を免疫沈殿した。一方、抗 Dsg1 抗体を持たない粘膜優位型 PV 血清 16 例、健常人血清 34 例は、hDsg4-His を認識しなかった。

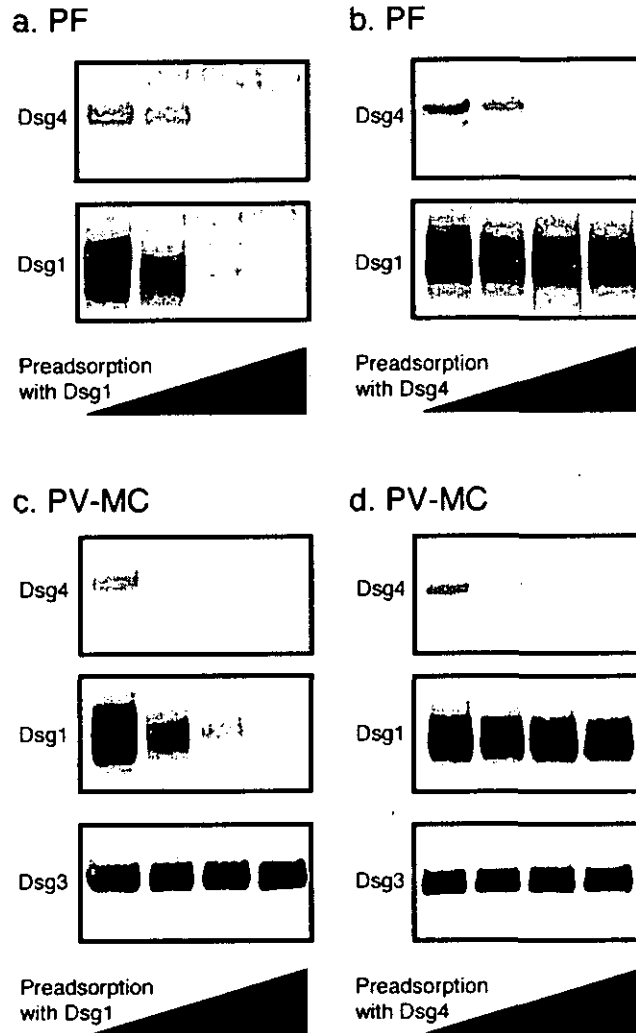


図2 抗 Dsg1 抗体除去による血清と Dsg4 との反応性の消失

a. c. 組換え Dsg1 蛋白を用いて抗 Dsg1 抗体を除去すると、血清と Dsg4 との反応性は完全に消失した。一方、血清と Dsg3 との反応性は影響されなかった。
 b. d. 組換え Dsg4 蛋白を用いて抗 Dsg4 抗体を除去しても、血清と Dsg1 との反応性に著変はなかった。なお三角印は抗体除去に使用された組換え蛋白の量を示す。

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

英語論文

著者名	論文題目	雑誌名	巻、ページ、年
Ohyama M, Ota T, Aoki M, Tsunoda K, Harada R, <u>Koyasu S</u> , <u>Nishikawa T</u> , and <u>Amagai M</u> .	Suppression of the immune response against exogenous desmoglein 3 in desmoglein 3 knockout mice: An implication for gene therapy.	J Invest Dermatol	120:610-615, 2003.
Karlhofer FM, Hashimoto T, Slupetzky K, Kiss M, Liu Y, <u>Amagai M</u> , Pieczkowski F, Foedinger D, Kirnbauer R, and Stingl G.	230 kDa and 190 kDa proteins in addition to desmoglein 1 as immunological targets in a subset of pemphigus foliaceus with a combined cell surface and basement membrane zone immune staining pattern.	Exp Dermatol	12:646-654, 2003.
Tsunoda K, Ota T, Aoki M, Yamada T, Nagai T, Nakagawa T, <u>Koyasu S</u> , <u>Nishikawa T</u> , and <u>Amagai M</u> .	Induction of pemphigus phenotype by a mouse monoclonal antibody against the amino-terminal adhesive interface of desmoglein 3.	J Immunol	170:2170-2178, 2003.
<u>Amagai M</u> .	Desmoglein as a target in autoimmunity and infection.	J Am Acad Dermatol	48:244-252, 2003.
<u>Amagai M</u> .	A mouse with an active disease as a model for pemphigus.	Ann Dermatol Venereol	130:1176-1179, 2003.
Hisamatsu Y, Abreu Velez AM, <u>Amagai M</u> , Ogawa MM, Kanzaki T, and Hashimoto T.	Comparative study of autoantigen profile between Colombian and Brazilian types of endemic pemphigus foliaceus by various biochemical and molecular biological techniques.	J Dermatol Sci	32:33-41, 2003.
Kozłowska A, Hashimoto T, Jarzabek-Chorzelska, <u>Amagai M</u> , Nagata Y, Strasz Z, and Jabłonska S.	Pemphigus herpetiformis with IgA and IgG antibodies to desmoglein 1 and IgG antibodies to desmocollin 3.	J Am Acad Dermatol	48:117-122, 2003.
Nishifuji K, <u>Amagai M</u> , Ota T, <u>Nishikawa T</u> , and Iwasaki T.	Cloning of canine desmoglein 3 and immunoreactivity of serum antibodies in human and canine pemphigus vulgaris with its extracellular domains.	J Dermatol Sci	32:181-191, 2003.

Ota T, <u>Amagai M</u> , Watanabe M, and <u>Nishikawa T</u> .	No involvement of IgG autoantibodies against extracellular domains of desmoglein 2 in paraneoplastic pemphigus or inflammatory bowel diseases.	J Dermatol Sci	32:137-141, 2003.
Nishifuji K, <u>Amagai M</u> , <u>Nishikawa T</u> , and Iwasaki T.	Production of recombinant extracellular domains of canine desmoglein 1 (Dsg1) by baculovirus expression.	Vet Immunol Immunopathol	95:177-182, 2003.
Parlowsky T, Welzel J, <u>Amagai M</u> , Zillikens D, and Wygold T.	Neonatal pemphigus vulgaris: IgG4 autoantibodies to desmoglein 3 induce skin blisters in newborns.	J Am Acad Dermatol	48:623-625, 2003.
Futei Y, <u>Amagai M</u> , Hashimoto T, and <u>Nishikawa T</u> .	Conformational epitope mapping and IgG subclass distribution of desmoglein 3 in paraneoplastic pemphigus.	J Am Acad Dermatol	49:1023-1028, 2003.
Nagao K, Ishiko A, Yokoyama T, Tanikawa A, and <u>Amagai M</u> .	A case of generalized pustular psoriasis treated with topical eralized pustular psoriasis treated with topical tacrolimus.	Arch Dermatol	139:1219, 2003.
Hacker-Foegen MK, Janson M, <u>Amagai M</u> , Fairley JA, and Lin MS.	Pathogenicity and epitope characteristics of anti-desmoglein-1 from pemphigus foliaceus patients expressing only IgG1 autoantibodies.	J Invest Dermatol	121:1373-1378, 2003.
Hanakawa Y, Schechter NM, Lin C, Nishifuji K, <u>Amagai M</u> , and Stanley JR.	Enzymatic and molecular characteristics of the efficiency and specificity of exfoliative toxin cleavage of desmoglein 1.	J Biol Chem	279:5268-5277, 2004.
Shimizu A, <u>Ishiko A</u> , Ota T, Tsunoda K, <u>Amagai M</u> , and <u>Nishikawa T</u> .	IgG binds to desmoglein 3 in desmosomes and causes a desmosomal split without keratin retraction in a pemphigus mouse model.	J Invest Dermatol	in press, 2004.

Preis K, Horvath A, Sardy M, Somlai B, Harsing F, <u>Amagai M</u> , Hashimoto T, Nagata Y, Fekete S, and Karpati S.	Exacerbation of paraneoplastic pemphigus by cyclophosphamide treatment: Detection of novel autoantigens and bronchial autoantibodies.	Br J Dermatol	in press, 2004.
Aoki-Ota M, Tsunoda K, Ota T, Iwasaki T, Koyasu S, <u>Amagai M</u> , and <u>Nishikawa T</u> .	A mouse model of pemphigus vulgaris by adoptive transfer of naive splenocytes from desmoglein 3 knockout mice.	Br J Dermatol	in press, 2004.
Zawalich WS, Zawalich KC, Tesz GJ, Taketo MM, Sterpka J, Philbrick W, <u>Matsui M</u> .	Effects of Muscarinic Receptor Type 3 Knockout on Mouse Islet Secretory Responses.	Biochem Biophys Res Commun	315: 872-876, 2004
Griffin MT, <u>Matsui M</u> , Shehnaz D, Ansari KZ, Taketo MM, Manabe T, Ehlert FJ.	Muscarinic agonist-mediated heterologous desensitization in isolated ileum requires activation of both muscarinic M ₂ and M ₃ receptors.	J Pharmacol Exp Ther	308: 339-49, 2004
Aihara T, Fujishita T, Kanatani K, Furutani K, Nakamura E, Taketo MM, <u>Matsui M</u> , Chen D, Okabe S. Impaired Gastric	Secretion and Lack of Trophic Responses to Hypergastrinemia in M ₃ Muscarinic Receptor-knockout Mice.	Gastroenterology	125: 1774-1784, 2003
Ohno-Shosaku T, <u>Matsui M</u> , Fukudome Y, Shosaku J, Tsubokawa H, Taketo MM, Manabe T, Kano M.	Postsynaptic M ₁ and M ₃ receptors are responsible for the muscarinic enhancement of retrograde endocannabinoid signaling in the hippocampus.	Eur J Neurosci	18: 109-16, 2003
Karasawa H, Taketo MM, <u>Matsui M</u> .	Loss of anti-cataleptic effect of scopolamine in mice lacking muscarinic acetylcholine receptor subtype 4.	Eur J Pharmacol	468: 15-19, 2003
<u>Matsui M</u> , Griffin MT, Shehnaz D, Taketo MM, Ehlert FJ.	Increased Relaxant Action of Forskolin and Isoproterenol against Muscarinic Agonist-Induced Contractions in Smooth Muscle from M ₂ Receptor Knockout Mice.	J Pharmacol Exp Ther	305:106-113, 2003

Suzuki, H., Matsuda, S., Terauchi, Y., Fujiwara, M., Ohteki, T., Asano, T., Behrens, T. W., Kouro, T., Takatsu, K., Kadowaki, T. and <u>Koyasu, S.</u>	PI3K and Btk differentially regulate B cell antigen receptor mediated signal transduction.	Nat. Immunol.	4:280-286, 2003.
Suzue, K., Asai, T., Takeuchi, T. and <u>Koyasu, S.</u>	<i>In vivo</i> role of IFN-g produced by antigen presenting cells in early host defense against intracellular pathogens.	Eur. J. Immunol.	33:2666-2675, 2003
Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., Sugiyama, T., Miyagishi, M., Hara, K., Tsunoda, M., Murakami, K., Ohteki, T., Uchida, S., Takekawa, S., Waki, H., Tsuno, N. H., Shibata, Y., Terauchi, Y., Froguel, P., Tobe, K., <u>Koyasu, S.</u> , Taira, K., Kitamura, T., Shimizu, T., Nagai, R., and Kadowaki, T.	Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects.	Nature	423:762-769, 2003.
Esashi, E., Sekiguchi, T., Ito, H., <u>Koyasu, S.</u> , and Miyajima, A.	A possible role for CD4 ⁺ thymic macrophages as professional scavengers of apoptotic thymocytes.	J. Immunol.	171:2773-2777, 2003.
Watanabe, N., Nakajima, H., Suzuki, H., Oda, A., Matsubara, Y., Moroi, M., Terauchi, Y., Kadowaki, T., Suzuki, H., <u>Koyasu, S.</u> , Ikeda, Y. and Handa, M.	Functional phenotype of phosphoinositide 3-kinase p85a null platelets characterized by an impaired response to GPVI stimulation.	Blood	102:541-548, 2003.
Glassford, J., Soeiro, I., Skarell, S. M., Banerji, L., Holman, M., Klaus, G. G. B., Kadowaki, T., <u>Koyasu, S.</u> , and Lam, E. W.-F.	BCR targets cyclin D2 via Btk and the p85a subunit of PI3-K to induce cell cycle progression in primary mouse B cells.	Oncogene	15:2248-2259, 2003.

Nakaoka, Y., Nishida, K., Fujio, Y., Izumi, M., Terai, K., Oshima, Y., Sugiyama, S., Matsuda, S., <u>Koyasu, S.</u> , Yamauchi-Takahara, K., Hirano, T., Kawase, I. and Hirota, H.	Activation of gp130 transduces hypertrophic signal through interaction of scaffolding/docking protein Gab1 with tyrosine phosphatase SHP2 in cardiomyocytes.	Circ. Res.	93:221-229, 2003.
<u>Koyasu, S.</u>	The role of PI3K in immune cells..	Nat. Immunol	4:313-319, 2003.
Fukao, T. and <u>Koyasu, S.</u>	PI3K in negative regulation of TLR signaling.	Trends Immunol.	24:358-363, 2003.
Fukao, T., Terauchi, Y., Kadowaki, T. and <u>Koyasu, S.</u>	Role of phosphoinositide 3-kinase signaling in mast cells: new insights from knockout mice.	J. Mol. Med.	81:524-535, 2003.
Matsuda, S. and <u>Koyasu, S.</u>	Regulation of MAPK signaling pathways through immunophilin-ligand complex.	Curr. Top. Med. Chem.	3:1358-1367, 2003.
<u>Koyasu, S.</u>	The role of class I _A PI3K in B lymphocyte development and functions.	Biochem. Soc. Trans.	in press.
Koike F, Satoh J-i, Kondo T, Miyake S, Yamamoto T, Kawai M, Kikuchi S, Nomura K, Yokoyama K, Ota K, Kanda T, Fukazawa T, and <u>Yamamura T:</u>	Microarray analysis identifies IFN β -regulated genes in multiple sclerosis..	J. Neuroimmunol	139: 109-118, 2003
Nakamura T, Sonoda K-H, Faunce DE, Gumperz J, <u>Yamamura T.</u> , Miyake S, Stein-Streilein S:	CD4 ⁺ NKT cells, but not conventional CD4 ⁺ T cells, are required to generate efferent CD8 ⁺ T regulatory cells following antigen inoculation in an immune-privileged site.	J. Immunol.	171:1266-1271, 2003
Bedoui S, Miyake S, Lin Y, Miyamoto K, Oki S, Kawamura N, Beck-Sickinger A, von Hoersten S, and <u>Yamamura T:</u>	Neuropeptide Y (NPY) suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis: NPY Y ₁ receptor-specific inhibition of autoreactive Th1 responses in vivo.	J. Immunol.	171: 3451-3458, 2003

Stanic AK, Shashidharamurthy R, Bezradica JS, N. Matsuki N, Yoshimura Y, Miyake S, Choi EY, Schell TD, Van Kaer L, Tevethia SS, Roopenian DC, <u>Yamamura T</u> and Joyce S:	Another view of T cell antigen recognition: Co-operative engagement of glycolipid antigens by Va14Ja18 natural TCR.	J. Immunol.	171:4539-4551, 2003
Chiba A, Oki S, Miyamoto K, Hashimoto H, <u>Yamamura T.</u> and Miyake S:	Natural killer T-cell activation by OCH, a sphingosine truncated analogue of a-galactosylceramide, prevents collagen-induced arthritis.	Arthr. Rheumat.	50:305-313, 2004
Illes Zs, Shimamura M, Newcombe J, Oka N, and <u>Yamamura T:</u>	Accumulation of Va7.2Ja33 invariant T cells in autoimmune inflammatory lesions of the nervous system.	Int. Immunol.	16: 223-230 , 2004
<u>Yuki N.</u> , Saperstein DS:	Axonal Guillain-Barré syndrome subtypes: do we need more splitting?	Neurology	61: 598-599, 2003.
Koga M, <u>Yuki N.</u> , Tsukada Y, Hirata K, Matsumoto Y:	CDR3 spectratyping analysis of the T cell receptor repertoire in Guillain-Barré and Fisher syndromes.	J Neuroimmunol	141:112-117, 2003.
Susuki K, Nishimoto Y, Yamada M, Baba M, Ueda S, Hirata K, <u>Yuki N.:</u>	Acute motor axonal neuropathy rabbit model: immune attack on nerve root axons.	Ann Neurol	54:393-388, 2003.
Odaka M, <u>Yuki N.</u> , Yamada M, Koga M, Takemi T, Hirata K, Kuwabara S:	Bickerstaff's brainstem encephalitis: clinical features of 62 cases and a subgroup associated with Guillain-Barré syndrome.	Brain	126: 2279-2290, 2003.
Odaka M, <u>Yuki N.</u> , Hirata K:	Patients with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy initially diagnosed as Guillain-Barré syndrome.	J Neurol	250: 913-916, 2003.
Ikuta N, Fukusako T, <u>Yuki N.</u> , Morimatsu M, Koga M:	Acute oropharyngeal palsy associated with anti-GM1b IgG antibody.	J Neurol	250: 881-882, 2003.

Sekiguchi K, Susuki K, Funakawa I, Jinnai K, <u>Yuki N.</u> :	Cerebral white matter lesions in acute motor axonal neuropathy.	Neurology	61: 272-273, 2003.
Susuki K, Johkura K, <u>Yuki N.</u> , Kuroiwa Y:	Clinical deterioration in Bickerstaff's brainstem encephalitis caused by overlapping Guillain-Barré syndrome.	J Neurol	211: 89-92, 2003.
Odaka M, <u>Yuki N.</u> , Kokubun N, Hirata K, Kuwabara S:	Axonal Guillain-Barré syndrome associated with axonal Charcot-Marie-Tooth disease.	J Neurol Sci	211: 93-97, 2003
Ogawara K, Kuwabara S, Koga M, Mori M, <u>Yuki N.</u> , Hattori T:	Anti-GM1b IgG antibody is associated with acute motor axonal neuropathy and <i>Campylobacter jejuni</i> infection.	J Neurol Sci	210:41-45, 2003.
Odaka M, Koga M, <u>Yuki N.</u> , Susuki K. Hirata K:	Longitudinal changes of anti-ganglioside antibodies before and after Guillain-Barré syndrome onset subsequent to <i>Campylobacter jejuni</i> enteritis.	J Neurol Sci	210: 99-103, 2003.
Koga M, <u>Yuki N.</u> , Hirata K, Morimatsu M, Mori M, Kuwabara S:	Anti-GM1 antibody IgG subclass: a clinical recovery predictor in Guillain-Barré syndrome.	Neurology	60: 1514-1518, 2003.
Odaka M, <u>Yuki N.</u> :	Antibodies to GM2 ganglioside in neurological disorders.	Intern Med	42:220-221, 2003.
Suzuki S, Tanaka K, Yasuoka H, Fukuuchi Y, Kawakami Y, <u>Kuwana M.</u>	Autoreactive T cells to the P3A ⁺ isoform of AChR a subunit in myasthenia gravis.	J Neuroimmunol	137:177-186, 2003
Kajihara M, Kato S, Okazaki Y, Kawakami Y,	Ishii M, Ikeda Y, <u>Kuwana M.</u> A role of autoantibody-mediated platelet destruction in thrombocytopenia in patients with cirrhosis.	Hepatology	37:1267-1276, 2003
<u>Kuwana M.</u>	Autoreactive CD4 ⁺ T cells to b2-glycoprotein I in patients with antiphospholipid syndrome.	Autoimmun Rev	2:192-198, 2003

Nomura S, <u>Kuwana M</u> , Ikeda Y.	Induction of T-cell tolerance in a patient with idiopathic thrombocytopenic purpura by single injection of humanized monoclonal antibody to CD40 ligand.	Autoimmunity	36:317-319, 2003
<u>Kuwana M</u> , Nomura S, Fujimura K, Nagasawa T, Muto Y, Kurata Y, Tanaka S, Ikeda Y.	The effect of a single injection of humanized anti-CD154 monoclonal antibody on the platelet-specific autoimmune response in patients with immune thrombocytopenic purpura.	Blood	103:1229-1236, 2004

英語著書

著者名	論文題目	著書名	巻、ページ、年
<u>Amagai M</u>	Pemphigus	<i>Dermatology</i>	1: 449-462, 2003

日本語論文

著者名	論文題目	雑誌名	巻、ページ、年
天谷雅行	ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群：SSSS	小児科診療	67: 391-395, 2004
天谷雅行	黄色ブドウ球菌毒素 ET の標的分子	Medical Science Digest	29: 254-255, 2003
天谷雅行	最新の臨床検査 - 天疱瘡の新しい血清診断法：Dsg1, Dsg3 ELISA 法-	SRL 宝函	27: 66-72, 2003
天谷雅行	自己免疫水疱症の最新情報	日本医師会雑誌	129: 1425-1429, 2003
天谷雅行	デスマグレインテスト「Dsg3」「Dsg1」について	皮膚病診療	25: 1058-1060, 2003
天谷雅行	デスマグレインを標的とする疾患：天疱瘡とブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群	日本皮膚科学会雑誌	113: 1947-1948, 2003
天谷雅行	自己免疫性水疱症	皮膚臨床	43: 1343-1349, 2003
天谷雅行	ELISA による天疱瘡自己抗体価測定法	臨床皮膚科	印刷中, 2004
天谷雅行	水疱性疾患の自己抗体	臨床検査	印刷中, 2004
天谷雅行	炎症性皮膚疾患の動物モデル：天疱瘡	アレルギー科	印刷中, 2004
松井 稔	ムスカリン性アセチルコリン受容体と脳神経機能 ノックアウトマウスを用いた成果	遺伝子医学	47-55, 2003
桑名正隆、池田康夫	ステロイド/摘脾抵抗性 ITP-CD40 リガンドを標的とした治療法	臨床血液	44: 82-89, 2003.
桑名正隆	ITP に関する免疫学的研究の進歩	日本臨床	61: 670-675, 2003.
桑名正隆	樹状細胞のサブセット	臨床検査	47: 267-273, 2003.
桑名正隆	樹状細胞	血液・腫瘍・免疫	8: 100-106, 2003.
桑名正隆、池田康夫	ステロイド/摘脾抵抗性 ITP-CD40 リガンドを標的とした治療法	臨床血液	44: 82-89, 2003.