

200400577A

厚生労働科学研究費補助金

感覚器障害研究事業

難治性内眼炎の発症機序解明と
新しい免疫治療に関する研究

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 大野重昭

平成17（2005）年3月

目次

I. 班員名簿

II. 総括研究報告

『難治性内眼炎の発症機序解明と新しい免疫治療に関する研究』

主任研究者 大野 重昭

(北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野)

III. 分担研究報告

1. 『マウス自己免疫性ぶどう膜炎モデルを用いた新規治療標的の探索』

分担研究者 小野江 和則

(北海道大学遺伝子病制御研究所病態研究部門免疫応答分野)

2. 『Maf 関連遺伝子の研究』

分担研究者 酒井 正春 (北海道大学大学院医学研究科分子生物学分野)

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

I. 班員名簿

<区分>	<氏名>	<所属>	<役職>
主任研究者	大野 重昭	北海道大学大学院医学研究科 視覚器病学分野	教授
分担研究者	小野江 和則	北海道大学遺伝子病制御研究所 免疫応答分野	教授
	酒井 正春	北海道大学大学院医学研究科 分子生物学分野	助教授

事務局

〒060-8638 札幌市北区北15条西7丁目
 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野内
 TEL: (011)706-5944 直通
 FAX: (011)736-0952

Ⅱ. 総括研究報告

厚生科学研究費補助金感覚器障害研究事業総括研究報告書

研究課題名

難治性内眼炎の発症機序解明と新しい免疫治療に関する研究

主任研究者

大野 重昭 北海道大学大学院医学研究科 視覚器病学分野

分担研究者

小野江 和則 北海道大学遺伝子病制御研究所 免疫応答分野
酒井 正春 北海道大学大学院医学研究科 分子生物学分野

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

総括研究報告書

難治性内眼炎の発症機序解明と新しい免疫治療に関する研究

主任研究者 大野重昭

北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野

研究要旨

内眼炎の代表的疾患であるベーチェット病、原田病原因遺伝子を同定するため患者血液から遺伝子を抽出してマイクロサテライト法を用いて原因遺伝子を検索した。現在までに 4 染色体の第 1 次スクリーニングを終了し、9%のマーカーが陽性となった。原田病、サルコイドーシスでは既に報告されている HLA-DR 領域に相関が見られた。外因的要因の検討；外的要因の 1 つである酸化ストレス、一酸化窒素(NO)に着目し、安全性の高い NO 産生抑制作用を示す化合物の探索を行った。エンドトキシンを投与したラットの前房水中には好中球を中心とした炎症細胞の浸潤やタンパク質の漏出、炎症性サイトカインおよび NO 濃度の上昇が顕著にみられるが、アロニア抽出物およびワカメ由来のカロテノイドであるフコキサンチンを投与したラットではこれらのパラメータは投与量依存的に抑制された。その抑制効果はステロイド投与群に匹敵していた。

分担研究者

小野江和則

(北海道大学遺伝子病制御研究所)

酒井正春

(北海道大学大学院医学研究科分子生物学分野)

発症機序解明、および新たな治療の開発を目的に研究を行なった。

A. 研究目的

内眼炎は突然発症し視力低下をきたす疾患であり、中には失明に至る症例もある。しかしその病態は複雑であり、まだまだ解明には至っていない。外的要因としては酸化ストレス、一酸化窒素(NO)が、炎症の増強に関わっていることが知られている。我々は内眼炎の

B. 研究方法

原因遺伝子を同定するため各医療施設の倫理委員会の承認を得て患者の遺伝子を集め、マイクロサテライト法により原因遺伝子を同定する。また、内眼炎のメカニズムを解明するため炎症性サイトカインの発現、分泌について分子生物学的に検討する。新しい内眼炎の治療法として顆

粒球吸着療法による炎症発作の抑制、また、安全性の高い NO 産生抑制作用を示す化合物の内眼炎に対する効果について動物実験モデルを用いて検討した。

C. 研究結果

内眼炎の代表的疾患としてベーチェット病、原田病、サルコイドーシスがある。これらの疾患では以前から遺伝的な要因がその発症に関わっているとされているが、その原因遺伝子を同定するため患者血液から遺伝子を抽出してマイクロサテライト法を用いて原因遺伝子を同定した。現在までに 4 染色体の第 1 次スクリーニングを終了し、9%のマーカーが陽性となった。原田病、サルコイドーシスでは既に報告されている HLA-DR 領域に相関が見られた。

D. 考察

今後は第 6 染色体以外の遺伝子でも第 1 次スクリーニングをすすめていく予定である。エンドトキシンを投与したラットの前房水中には好中球を中心とした炎症細胞の浸潤やタンパク質の漏出、炎症性サイトカインおよび NO 濃度の上昇が顕著にみられるが、アロニア抽出物およびワカメ由来のカロテノイドであるフコキサンチンを投与したラットではこれらのパラメータは投与量依存的に抑制された。その抑制効果はステロイド投与群に匹敵していた。

E. 結論

内眼炎の発症機序について原因遺伝子を同定するための研究を進めた。また、新たな免疫療法の開発を行なった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shiratori K, Ohgami K, Ilieva B. I., Xue-Hai Jin, Koyama Y, Miyashita K, Yoshida K, Kase S, Ohno S: Effects of fucoxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo; in press
1. Kase S, Nakayama I K, Nakayama K, Ikeda H2, Harada T, Harada C, Ohgami K, Shiratori K, Ohno S, Yoshida K: Phosphorylation of p27 (KIP1) in the developing retina and retinoblastoma. Int J Mol Med; in press
1. Kase S, Ikeda H, Harada T, Harada C, Imaki J, Ohgami K, Shiratori K, Nakayama K I., Nakayama K, Ohno S, Yoshida K: Disappearance of p27 (KIP1) and increase in proliferation of the lens cells after extraction of most of the fiber cells of the lens. Cur Eye

Res ; in press

1. Ariga T, Shimada Y, Shiratori K, Ohgami K, Yamazaki S, Tagawa Y, Kikuchi M, Miyakita Y, Fujita K, Ishiko H, Aoki K, Ohno S: Five new genome types of adenovirus type 37 caused epidemic keratoconjunctivitis in Sapporo, Japan, for more than 10 years. *J Clin. Microbio* 43:726-732, 2005
1. Harada C, Harada T, Hun-Meng A. Q, Namekata K, Yoshida K, Ohno S, Tanaka K, L.F.Parada: Role of neurotrophin-4/5 in neural cell death during retinal development and ischemic retinal injury in vivo. *Invest. Ophthalmol Vis Sci* 46:669-673, 2005
1. Ohgami K, Ilieva B. I, Shiratori K, Koyama Y, Xue-Hai Jin, Yoshida K, Kase S, Kitaichi N, Suzuki Y, Tanaka T, Ohno S: Anti-inflammatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46:275-281, 2005
1. Kase S, Imaki J, Harada T, Harada C, Ohgami K, Shiratori K, Sakai M, Nishi S, Ohno S, Yoshida K: Expression of maf-B mRNA in the epithelium around the eyelid closure of the mouse eye at embryonic day 18. *Anat Embryol* 209:153-156, 2004
1. Ohno S, Nakamura S, Hori S, Shimakawa M, Kawashima H, Mochizuki M, Sugita S, Ueno S, Yoshizaki K, Inaba G: Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behcet's disease with refractory uveoretinitis. *J Rheumatol* 31:1362-1368, 2004
1. Ilieva B. I, Ohgami K, Shiratori K, Koyama Y, Yoshida K, Kitamei H, Takemoto Y, Yazawa K, Ohno S: The effects of Ginkgo Biloba Extract on Lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. *Exp Eye Res* 79:181-187, 2004
1. Yoshida K, Kase S, Nakayama K, Nagahama H, Harada T, Ikeda H, Harada C, Imaki J, Ohgami K, Shiratori K, Iliyana B I, Ohno S, Nishi S, Nakayama K I : Involvement of p27KIP1 in the Proliferation of the Developing Corneal Endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2163-2167, 2004
1. Yoshida K, Kase S, Nakayama K, Nagahama H, Harada T, Ikeda H, Harada C, Imaki J, Ohgami K, Shiratori K, Ohno S, Nakayama KI: Distribution

- of p27(KIP1), cyclin D1, and proliferating cell nuclear antigen after retinal detachment. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 242:437-441, 2004
1. Yoshida K, Nakayama K, Kase S, Nagahama H, Harada T, Ikeda H, Harada C, Imaki J, Ohgami K, Shiratori K, **Ohno S**, Nishi S, Nakayama KI: Involvement of p27(KIP1) in proliferation of the retinal pigment epithelium and ciliary body. *Anat Embryol (BerlMar 9)* 2004
 1. Shiratori K, Ohgami K, Ilieva IB, Koyama Y, Yoshida K, Ohno S: Inhibition of endotoxin-induced uveitis and potentiation of cyclooxygenase-2 protein expression by alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45:159-164, 2004
 1. Kase S, Aoki K, Harada T, Harada C, Ohgami K, Shiratori K, Nishi S, Ohno S, Yoshida K: Activation of nuclear factor-kappa B in the conjunctiva with the epithelial scraping of the mouse cornea and human epidemic keratoconjunctivitis. *Br J Ophthalmol* 88:947-949, 2004
 1. Ariga T, Shinmada Y, Ohgami K, Tagawa Y, Ishiko H, Aoki K, Ohno S: New genome type of adenovirus serotype 4 caused nosocomial infections associated with epidemic conjunctivitis in Japan. *J Clin Microbiol* 42:3644-3648, 2004
 1. Kaneko H, Mori S, Suzuki O, Iida T, Shigeta S, Abe M, Ohno S, Aoki K, Suzutani T: The cotton rat model for adenovirus ocular infection : antiviral activity of cidofovir. *Antivir Res* 61:63-66, 2004
 1. Shimada Y, Ariga T, Tagawa Y, Aoki K, Ohno S, Ishiko H: Molecular diagnosis of human Adenoviruses D and E by a phylogeny-based classification method using a partial hexon sequence. *J Clin Microbiol* 42:1577-1584, 2004
 1. Nishida T, Miyata S, Itoh Y, Mizuki N, Ohgami K, Shiratori K, Iliyana B I, Ohno S, Andrew W T: Anti-inflammatory effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone against rat endotoxin-induced uveitis and the time course of inflammatory agents in aqueous humor. *Int Immunopharmacol* 4:1059-1066, 2004

19. Harada C, Harada T, Mitamura Y, Quah A H-M, Ohtsuka K, Kotake S, Ohno S, Wada K, Takeuchi S, Tanaka K: Diverse NF- κ B expression in epiretinal membranes after human diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Molecular Vision* 10:31-36, 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

2、学会発表

1. 109回日本眼科学会, 京都, 2005, 3
2. APAO(アジア太平洋眼科学会議), Kuala Lumpur, Malasia, 2005, 3
3. ARVO 2004, Fort Lauderdale, Florida, 2004, 4
4. 第108回日本眼科学会総会, 東京, 2004, 4
5. 第16回アレルギー学会, 前橋, 2004, 5
6. 第13回アフリカ・アジア眼科学会, Istanbul, Turkey, 2004, 6
7. 第9回中華医学会眼科学分会, 武漢, 中国, 2004, 9
8. X I . International Conference on Behcet's disease, Antalya, Turkey, 2004, 10
9. 第58回日本臨床眼科学会, 東京, 2004, 11

Ⅲ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

「難治性内眼炎の発症機序解明と新しい免疫治療に関する研究」

分担研究報告書

「マウス自己免疫性ぶどう膜炎モデルを用いた新規治療標的の探索」

分担研究者	小野江和則	北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野
研究協力者	岩淵 和也	北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野
	北村 瑞	同上・北大大学院医学研究科視覚器病学分野
	北明 大州	同上・北大大学院医学研究科視覚器病学分野
	北市 伸義	北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野
	南場 研一	北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野
	今 重之	北大遺制研マトリックスメディスン研究部門
	上出 利光	北海道大学遺伝子病制御研究所分子免疫分野
	大野 重昭	北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野

研究要旨 NKT 細胞は、免疫応答の調節作用を有するとともに、それ自身もエフェクター細胞として様々な免疫・炎症性疾患の発症・進展過程に正・負の影響を与える。NKT 細胞特異的遺伝子発現プロファイルを、マイクロアレイを用いて解析した。いくつかの遺伝子に着目し、NKT 細胞機能や疾患モデルにおける役割に関して解析した結果、シアル酸に富む骨マトリックス蛋白質であるオステポンチン (OPN) が、実際に NKT 細胞から大量に産生されること、マウス自己免疫性肝炎モデル (マウス Con A 肝炎) において NKT 細胞が重要なエフェクターとなっていることと NKT 細胞からの OPN 産生は関連していること、などが明らかとなった。Con A 肝炎と同様 Th1 優位の疾患であるマウス自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) で、OPN が疾患の発症・進展に影響を及ぼす可能性を検索する目的で、OPN ノックアウトマウス (OPN KO) に疾患を誘発したところ、発症日の有意な遅延・臨床スコアの改善を認めた。以上の結果より、難治性内眼炎の治療標的として OPN とその受容体への介入が1つの候補となると考えられた。

A. 研究目的

NKT 細胞は、CD1d を拘束分子として脂質リガンドを認識し、自然免疫系と獲得免疫系とを連繋する機能を有する¹⁾。また、自己免疫疾患・感染症・炎症性疾患などで、その進展過程で促進性にも抑制性にも働き得ることが、個々の疾患で明らかにされつつある²⁾。この二面性のある NKT 細胞の免疫調節機能は、NKT 細胞特有の分化と活性化経路によると考えられる。NKT 細胞は、骨髄由来細胞上の CD1d により選択され、分化するユニークな機能を発揮する T 細胞亜群である。T 細胞系に属するが、ノックアウトマウスの解析などから、シグナル分子やその他の機能分子の遺伝子破壊の影響が必ずしも T 細胞とシェアされていない部

分があることが判明している³⁾。この NKT 細胞特異的遺伝子発現が、その機能発現においてどのような効果をもたらしているか、また各種疾患での NKT 細胞の挙動をどのように説明し得るか、は重要な問題である。

以前、北市らは抗 NK1.1 抗体である PK136 を *in vivo* に投与し、NK1.1⁺細胞を除去することで EAU の軽症化が生じることを報告した⁴⁾。このメカニズムの詳細は検討されていないが、除去される NK1.1⁺細胞には、NK 細胞の他に NKT 細胞も含まれると考えられる。この観点からも、NKT 細胞特異的遺伝子の探索により、どのような遺伝子機能が、これら病態形成に関わるかの検討が必要である。

今回、マイクロアレイ解析から明らかに

された、NKT 細胞で特異的に発現が亢進される OPN に焦点をあてて研究した。これまでに、マウス Con A 肝炎では、OPN がキー分子として機能し、そのソースとして NKT 細胞が重要であることを明らかにした⁵⁾。すなわち、Con A 刺激により産生される OPN がトロンビンにより限定分解され、NKT 細胞を autocrine に刺激し、産生された MIP-2 により好中球を活性化することで肝障害を促進することが判明した。

OPN は Th1 type の免疫応答に重要な機能を担っていることが既に知られている⁶⁾。本研究では、同じく Th1 病と考えられる EAU モデルでも、OPN が何らかの役割を果たしていると想定し、OPN/OPN-R 系への介入による、Th1 病態制御の基盤形成のために、まず OPN^{-/-}マウスにおける EAU の発症実験を行った結果を報告する。

B. 研究方法

1. NKT 細胞特異的遺伝子発現のマイクロアレイ解析

C57BL/6 (B6) の CD8⁻CD24⁻ 胸腺細胞を NK1.1/TCR $\alpha\beta$ で染色し、両陽性細胞をソーティングした。これらを、IL-2 1000 U/ml で 1 日培養後、100 Gy 照射 RBL-CD1d あるいは 30 Gy 照射脾 CD11c⁺細胞存在で、 α -galactosylceramide (α -GalCer) で刺激した。これらをさらに IL-2 300 U/ml で増殖させた後、RNA を得た。T 細胞については、NKT 細胞のソーティングの際、同時に TCR^{hi} の分画を採取 (CD4⁺) し、抗 CD3、抗 CD28 抗体で刺激後、IL-2 20 U/ml にて増殖させ、回収後 RNA を得た。NKT 細胞由来と T 細胞由来の RNA を用い、Agilent 社のマウス cDNA、および oligo microarray kit でマイクロアレイ解析を行った。この解析により、T 細胞に比較して NKT 細胞で有意な発現上昇が認められた遺伝子については、一部プライマーを作成して、NKT 細胞由来 RNA、あるいは T 細胞由来 RNA の逆転写 (RT) 産物

で PCR 反応を行い確認した。T 細胞については、B6 の胸腺 TCR^{hi} 細胞分画の他に、B6 あるいは B6.CD1d^{-/-}脾細胞のナイロンウールカラム非付着細胞を、CD45R、I-A^b、NK1.1 に対する抗体でネガティブ選択して T-enriched 分画を得た。これら末梢 T 細胞も抗 CD3、抗 CD28 抗体で刺激後、IL-2 20 U/ml にて増殖させ、回収後 RNA を得た。RT 反応は、5 mg の全 RNA を random hexamer と anneal させ、Superscript III (インビトロジェン) で常法に従って行った。

2. EAU の誘導実験

EAU は 6 週令の B10、あるいは OPN^{-/-}マウス⁷⁾ ♀に、ヒト視細胞間レチノイド結合蛋白質ペプチド (hIRBP₁₋₂₀:GPTHLFQPSLVLDMAKVLDD) 20 nmole をフロインドの完全アジュバントとともに側腹部皮下に免疫し、同日に百日咳毒素 0.1 μ g を腹腔内投与することによって誘導した⁷⁾。翌日より、マウスを散瞳後、眼底を Bonnoscope と Super Field NC Lens (Volk Optical) にて観察し、Thurau らの基準に従って、スコア化 (0~4) した。また、眼球についてはグルタルアルデヒド前固定/ホルマリン後固定の後、パラフィン切片を HE 染色し、病理組織学的評価 (0~4) を行った。

3. 倫理面への配慮

動物実験は、北海道大学動物実験委員会で審議を経た後、許可を得てから実施した。

C. 研究成果

1. 活性化 NKT 細胞で発現が亢進している遺伝子

活性化 NKT 細胞と活性化 T 細胞の間で、遺伝子発現の差を調べたところ、様々な遺伝子が候補としてリストされた。以下に、T 細胞発現に対する NKT 細胞の比として、いくつかを列挙する：

Primary name	Fold change
osteopontin	8.43
DAP12	7.73

granzyme F	7.72
4-1BB/CD137	6.65
galectin 3	6.40
granzyme A	6.31
HB-EGF	6.00

未だ解析途上であるので、挙げられないものも多いが、NKT 細胞での機能が非常に強く予想されるものから機能が全く予想されないものまで様々であった。ごく一部の遺伝子については、PCR でも T 細胞に比して NKT 細胞において高い発現が認められた。そのうち osteopontin については、リコンビナント蛋白質・抗体・トランスジェニックマウス・ノックアウトマウスなどが、遺伝子病制御研究所に揃っており、これらを用い EAU の系で検討することとした。

2. OPN^{-/-}におけるぶどう膜炎の発症と進展

OPN^{-/-}および対照の B6 マウスに EAU を誘導したところ、OPN^{-/-}では発症が遅延し、ピーク時の臨床スコアの低下を認めた (図 1)。平均発症日は B6 で 14.4±2.72 日であ

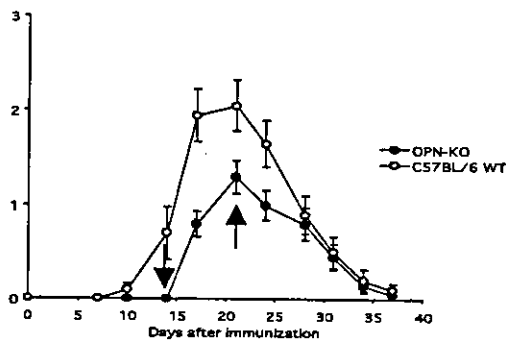
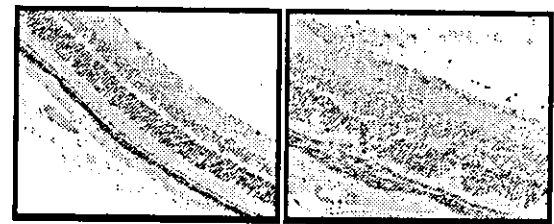


図 1 EAU 誘導後の臨床スコアの経時変化

ったのに対し、OPN^{-/-}では 18.2±1.93 日で、有意に遅延していた ($p < 0.01$)。また、病理組織学スコアでも、低い傾向にあった。代表的な病理組織像を示す (図 2)。OPN^{-/-}は intact な組織像 (score 0) を示す一方、B6 では、視細胞の乱れや肉芽腫形成、硝子体への炎症細胞の浸潤など (score

3) かなり高度な病変を示した。個々のマウスの病理組織学スコアにおいても、OPN^{-/-}でミニマルな病変を示す個体が多かった。



OPN KO	WT
score 0	score 3.0
Mean 0.65	1.2

図 2 EAU 眼の病理組織像

OPN^{-/-} (OPN KO) および B6 (WT) の代表的な病理組織像を示す。

D. 考察

NKT 細胞特異的遺伝子発現解析などから NKT 細胞が、炎症において最も強い OPN 産生細胞であることが判明した。実際に NKT 細胞から産生される OPN が、自己免疫性肝炎モデルである Con A 肝炎の系と同様、EAU においても促進的に機能することが、今回初めて判明した。すなわち、OPN^{-/-}では、WT と比べ EAU の発症・進展が抑制されていた。したがって、EAU を誘導する際、WT マウスで OPN の機能を抗体等で抑制することで、眼炎症を制御できる可能性が示された。

OPN は、それぞれ形質転換した線維芽細胞から分泌されるリン酸化蛋白質 secreted phosphoprotein、シアル酸に富む骨基質蛋白質 bone sialoprotein-I、T 細胞活性化に関係するサイトカイン様蛋白質 Early T cell activation (Eta)-1 などとして、別個にクローニングされた蛋白質である。これらは最終的に同一のものであることが判明し、それらを統合する名称としてオステオポンチンと命名された⁸⁾。この経緯からも、多様な生物活性を有する多機能蛋白質であることがわかるが、本体は分子内に GRGDS 配列を持ち、インテグリンと相互作用する細胞外マトリックス蛋白質である。ト

ロンピンにより限定分解されて生じる、前半 (NH₂ 側の半分) の末端の cryptic な配列 ¹³¹SLAYGLR は、 $\alpha_9\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$ インテグリンと結合し、これらを発現する好中球の病変部への遊走および活性化を惹起する。このことが炎症の増悪を招いていると考えられる。したがって、OPN の関与が考えられる炎症性疾患では、OPN、特に遊走・活性化に関与する部位に対する抗体治療の有効性が予想される。事実、このインテグリンと相互作用する部位に対する抗体 (M5) の投与によって、Con A 肝炎モデルでは肝障害の軽症化が認められ、また関節炎モデルでもその有効性が確認されている。EAU においても有効である可能性が高く、現在実験中である。また、OPN の発現を低下させる siRNA の in vivo 投与の実験も、現在計画している。

E. 結論

OPN^{-/-}マウスでは、EAU の発症が遅延し、臨床スコア値が極期において抑制されていた。従って、内眼炎の治療標的として、OPN/OPN-R 系への介入が新たに考慮されるべき候補と考えられた。

F. 参考文献

1. Taniguchi M et al: Nat Immunol 2003, 4: 1164-5.
2. Godfrey DI and Kronenberg M: J Clin Invest 2004, 114:1379-88.
3. Kronenberg M and Gapin L: Nat Immunol 2002, 2: 557-568.
4. Kitaichi N et al: J Leukoc Biol 2002, 72: 1117-1121.
5. Diao H et al: Immunity 2004, 21: 539-550.
6. O'Regan AW et al: Immunol Today 2000, 21: 475-8.
7. Namba K et al: J Immunol 2000, 165: 2962-9.

8. O'Regan A: Cytokine Growth Factor Rev 2003, 14: 479-488.

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamada, H., Shimada, S., Kato, E., Morikawa, M., Iwabuchi, K., Kishi, R., Onoé, K. and Minakami, H.: Decrease in a specific killer cell immunoglobulin-like receptor on peripheral natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology. **Am. J. Reprod. Immunol.** 51, 241-247, 2004.
- 2) Lixin, Y., Hakoda, M., Iwabuchi, K., Takeda, T., Kioke, T., Kamatani, N., and Takada, K.: Rheumatoid factors induce signaling from B cells, leading to Epstein-Barr virus and B-cell activation. **Virology**, 78 (18), 9918- 23, 2004.
- 3) Takagi, D., Iwabuchi, K., Iwabuchi, C., Nakamaru, Y., Maguchi, S., Ohwatari, R., Furuta, Y., Fukuda, S., Matsuki, N., Joyce, S. and Onoé, K.: Immunoregulatory defects of V α 24⁺V β 11⁺ NKT cells in development of Wegener's granulomatosis and relapsing polychondritis. **Clin. Exp. Immunol.** 138: 591-600, 2004.
- 4) Nakai, Y., Iwabuchi, K., Fujii, S., Ishimori, N., Nyambayar, D., Watano, K., Mishima, T., Iwabuchi, C., Tanaka, S., Bezbradica, J. S., Nakayama, T., Taniguchi, M., Miyake, S., Yamamura, T., Kitabatake, A., Van Kaer, L. and Onoé, K.: Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice. **Blood**, 104: 2051-59, 2004.
- 5) Diao, H., Kon, S., Iwabuchi, K., Kimura, C., Morimoto, J., Ito, D.,

- Segawa, T., Maeda, M., Hamuro, J., Nakayama, T., Taniguchi, M., Yagita, H., Van Kaer, L., Onoé, K., Denhardt, D., Rittling, S., and Uede, T.: Osteopontin as a mediator of NKT cell function in T-cell-mediated liver disease. *Immunity*, 21: 539-550, 2004.
- 6) Shimada, S., Kato, E.H., Morikawa, M., Iwabuchi, K., Nishida, R., Kishi, R., Onoé, K., Minakami, H. and Yamada, H.: No difference in natural killer or natural killer T-cell population, but aberrant T-helper population in the endometrium of women with repeated miscarriage. *Hum. Reprod.* 19, 1018-1024, 2004.
- 7) Nagashima, T., Aranami, T., Iclozan, C. and Onoé, K.: Analysis of T cell responses to a superantigen, staphylococcal enterotoxin B. *J. Clin. Exp. Hematopathol.* 44, 25-32, 2004.
- 8) Onoé, K., Iwabuchi, K. and Good, R.A.: T cell differentiation in allogeneic bone marrow chimeras. *Cancer Detection and Prevention, Symposium Vol. S-153-154*, 2004.
- 9) Aranami, T., Iclozan, C., Iwabuchi, K., and Onoé, K.: IL-7 dependent homeostatic proliferation in the presence of a large number of T cells in *gld* mice. *Microbiol. Immunol.* 48: 477-484, 2004.
- 10) Konishi, J., Yamazaki, K., Yokouchi, H., Shinagawa, N., Iwabuchi, K., and Nishimura, M.: The characteristics of human NKT cells in lung cancer - CD1d independent cytotoxicity against lung cancer cells by NKT cells and decreased human NKT cell response in lung cancer patients. *Hum. Immunol.* 65: 1377-88, 2004.
- 11) Yanagawa, Y. and Onoé, K.: CCR7 ligands induce interconnected ruffles of actin filaments in mature dendritic cells that are associated with vigorous endocytosis. *J. Clin. Exp. Hematopathol.* (in press)
- 12) Kikuchi, K., Yanagawa, Y. and Onoé, K.: CCR7 Ligands-enhanced phagocytosis of various antigens in mature dendritic cells -Time course and antigen distribution different from phagocytosis in immature dendritic cells. *Microbiol. Immunol.* (in press).
- 13) Minami, K., Yanagawa, Y., Iwabuchi, K., Shinohara, N., Harabayashi, T., Nonomura, K. and Onoé, K.: Negative feed back regulation of T helper type 1 (Th1)/Th2 cytokine balance via dendritic cell and natural killer T cell interactions. *Blood* (in press)
2. 著書等
- 1) 岩渕和也, 小野江和則: 第6項 脾臓。「モデル動物の作成と維持」, 森脇和郎, 山村研一, 米川博通編, エル・アイ・シー, 東京. 2004
- 2) 小野江和則: 免疫反応と免疫異常. 病態病理学. 菊地浩吉監修, 南山堂, 東京. pp.243-259, 2004.
- 3) 藤井聡, 中井之人, 三島鉄也, 北島 颯, 岩渕和也, 小野江和則: 動脈硬化病巣進展における NKT 細胞の役割. 臨床免疫、 41, 322-325, 2004.
- 4) 柳川芳毅, 小野江和則: CCR7 リガンドによる樹状細胞の多彩な機能調節. *Molecular Medicine (別冊免疫 2005)*, 41, 98-104, 2004.
- 5) 岩渕和也: 動脈硬化と NKT 細胞. *医学の歩み*, 212, 703, 2005.
- 6) 小野江和則: 翻訳・Really Essential Medical Immunology,

by Ivan Roitt & Arthur Rabson, 西村書店 (印刷中)

- 7) 岩渕和也: 翻訳・Really Essential Medical Immunology, by Ivan Roitt & Arthur Rabson, 西村書店 (印刷中)
- 8) 小野江和則: 免疫寛容. 「肝臓移植の実際」, 藤堂 省編, 日本医京. (印刷中)

3. 学会報告

- 1) Onoé, K.: Plenary Symposium "T cell differentiation in allogeneic bone marrow chimeras." "Robert A. Good Memorial Program on Tumor Immunology." 7th International Symposium on Molecular Basis of Predictive Oncology Intervention Strategies. 2004. (at Nice)
- 2) 高木 大, 中丸裕爾, 前田昌紀, 間口四郎, 古田 康, 福田 諭: Wegener 肉芽腫症における $V\alpha 24^*V\beta 11^*$ NKT 細胞の機能異常. 第 22 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 2004. (於 札幌)
- 3) Iwabuchi, K.: Symposium "A possible role of NKT cells in the development of atherosclerosis." Recent Progress in Neuroimmunology and NKT Cell Research. 2004. (於 東京)
- 4) Onoé, K.: Symposium "Central tolerance by negative selection and its abrogation by GVHR." "Second Japan-Australia Symposium on Biomedical Sciences: Drug Discovery for Infectious Diseases and Mutual Collaboration". 2004. (於 キロロ)
- 5) 小野江和則: 特別講演 動脈硬化症と免疫. 第 38 回日本眼炎症学会. 2004. (於 札幌)
- 6) 南場研一, 園田康平, 北明大洲, 岩渕和也, Andrew W. Taylor, 小野江和則, 大野重昭, Joan Stein-Streilein: マウス実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎の誘善における NKT 細胞の役割. 第 38 回日本眼炎症学会. 2004. (於 札幌)
- 7) 小野江和則: シンポジウム (司会): 「免疫と疾患—新たな病理学的展開」. 第 93 回日本病理学総会. 2004. (於 札幌)
- 8) 西田竜太郎, 岩渕和也, 小野江和則, 山田秀人, 島田茂樹, 櫻木範明, 水上尚典: マウス実験系における免疫グロブリンの流産抑止機構の解析. 第 44 回日本リンパ網内系学会. 2004. (於 京都)
- 9) 小野江和則, 飯島典文, 柳川芳毅: CCR7 を介した c-Jun N-terminal kinase の活性化は, 成熟樹状細胞の遊走を促進する. 第 44 回日本リンパ網内系学会. 2004. (於 京都)
- 10) 岩渕和也, 中井之人, Nyambayar Dashtsoodol, 安藤康博, 三島鉄也, 藤井 聡, 岩渕千雅子, 北畠 顕, 小野江和則: NKT 細胞が動脈硬化症を促進するメカニズム. 第 14 回 KTCC 学術集会. 2004. (於 京都)
- 11) 岩渕和也: シンポジウム; NKT 細胞と動脈硬化: 免疫系を制御する細胞たちの新しい顔. 日本動物細胞工学会国内大会. 2004. (於 東京)
- 12) Iclozan, C., Aranami, T., Iwabuchi, K. and Onoé, K.: Bone marrow cells differentiate into medullary thymic epithelial cells but not cortical thymic epithelial cells. 12th International Congress of Immunology, 2004. (at Montreal)
- 13) Yanagawa, Y. and Onoé, K.: CCR7 ligands assemble actin network and recruit Arp2/3 complex to Y-junctions of the actin network in

- mature dendritic cells. 12th International Congress of Immunology, 2004. (at Montreal)
- 14) Nakai, Y., Iwabuchi, K., Fujii, S., Ishimori, N., Iwabuchi, C., et al.: A role of Nature killer T cells in the development of atherosclerosis. 12th International Congress of Immunology, 2004. (at Montreal)
- 15) 高木 大: Wegener 肉芽腫および反復性多発性軟骨炎における V α 24⁺ NKT 細胞の機能異常: バイオとナノを融合する新生命科学拠点. 北海道大学 21 世紀 COE プログラム第 4 回研究発表会. 2004. (於 札幌)
- 16) 西田竜太郎、岩淵和也、島田茂樹、山田秀人、小野江和則: 免疫グロブリンの流産抑止機構におけるマクロファージ (M Φ) の重要性. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 17) Morohashi, T., Iwabuchi, K., Watano, K., Nyambayar, D., Nishida, R., Fujii, S. and Onoé, K: Transgenic expression of allograft inflammatory factor (AIF)-1 ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 18) 北明大洲、岩淵和也、北村端、小野江和則: マウス実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎 (EAU) の NF- κ B 阻害薬による制御機序. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 19) Yanagawa, Y. and Onoé, K.: CCR7 ligands induce interconnected ruffles of actin filaments in mature dendritic cells that are associated with vigorous endocytosis. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 20) Iijima, N., Yanagawa, Y. and Onoé, K.: Activation of c-Jun N-terminal kinase in CCR7-mediated cell migration of mature dendritic cells. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 21) 三浪圭太、柳川芳毅、岩淵和也、小野江和則: 樹状細胞による NKT 細胞のサイトカイン産生制御. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 22) 藤原孝喜、富山-宮路智香子、安保徹、小野江和則、井筒ゆみ: アフリカツメガエル J 系統の皮膚組織リモデリングにおける CD8-T 細胞の役割. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 23) Nyambayar, D., Nakai, Y., Andou, Y., Mishima, T., Fujii, S., Iwabuchi, K. and Onoé, K.: CD1d deficiency associated with amelioration of atherosclerosis development-A study with bone marrow chimeras. 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 24) Onoé, K.: Symposium, "Late Dr. Robert A. Good Memorial Symposium" (司会兼). "T cell differentiation in allogenic bone marrow chimeras." 第 34 回日本免疫学会. 2004. (於 札幌)
- 25) Iwabuchi, K.: Symposium, "A possible role of NKT cells in the development of atherosclerosis in mice." The Third International Workshop on NKT cells & CD1-mediated antigen presentation. 2004. (at Heron Island, Australia, Sept. 8~13)
- 26) Nishida, R., Shimada, S., Kato, E.H., Morikawa, M., Iwabuchi, K., Kishi, R., Tsuruga, N., Onoé, K., Sakuragi, N., Minakami, H. and Yamada, H: Decrease in a specific killer cell immunoglobulin-like receptor on peripheral natural killer cells in women with recurrent

spontaneous abortion of unexplained etiology. The IX International Congress of Reproductive Immunology. 2004. (at Hakone, Oct. 11-15)

27) 小野江和則：宿題報告 T 細胞免疫系の成立と生体内役割. 第 94 回日本病理学会. 2005. (於 横浜)

28) 岩淵和也, 上出利光, 小野江和則：マウス実験的網膜ぶどう膜炎 (EAU) におけるオステオポンチン (OPN) の役割. 第 94 回日本病理学会. 2005. (於 横浜)

29) 高木 大, 中丸裕爾, 前田昌紀, 福田 諭, 小野江和則：関節炎モデルにおけるマクロファージ遊走阻止因子および NKT 細胞の役割. 第 55 回日本アレルギー学会. 2005. (於 盛岡)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし