

新しい抑制性シグナリングシステム CD47-SHPS-1 系の自己免疫疾患における機能解析

分担研究者 野島美久 群馬大学大学院生体統御内科 教授

研究要旨

免疫系において機能する新しいシグナリングシステムである CD47-SHPS-1 系が赤血球代謝において抑制性の機能を示すことが明らかとなった。

A. 研究目的

細胞内に抑制性レセプターの特徴的なアミノ酸配列である ITIM モチーフを有する SHPS-1 は、主に単球やマクロファージ系細胞に発現が認められ広く血球上に発現する CD47 とレセプターリガンド関係を形成し、免疫応答において抑制性のシグナルを伝達することがこれまでに示唆されている。特に赤血球が脾臓内のマクロファージによって処理される過程においては、CD47 分子を遺伝的に欠損する CD47 ノックアウトマウス由来の赤血球が脾臓内マクロファージの貪食能を抑制しないことから、CD47-SHPS-1 シグナル系がマクロファージの機能に関して抑制性のシグナルを伝達する分子であると報告されている。

一方、マクロファージは脾臓内で赤血球の代謝過程において重要とさせる細胞である。自己免疫性疾患である溶血性貧血の病態においては、抗赤血球抗体の産生に加え感作赤血球(オプソニン化赤血球)がマクロファージにより排除される過程が重要とされる。また、老化赤血球が脾臓内のマクロファージで処理される過程の分子機構も不明な事が多い。今回我々は、赤血球代謝におけるマクロファージの機能に関する CD47-SHPS-1 シグナル系の関与を明らかにするために、すでに作成済みである SHPS-1 の細胞内領域を特異的に欠損したノックインマウス(SHPS-1 ノックインマウス)を用いて解析を行った。

B. 研究方法

SHPS-1 ノックインマウスは、C57BL/6 に対して Back-Cross を進め、第 5 世代となったもので 6 週齢の雌を使用した。

1. 脾臓細胞重量と細胞数の確認。ノックインマウスより脾臓を摘出し、脾臓の重量をコントロールマウスと比較し検討した。また、脾臓内の総細胞数を顕微鏡にて計測し、Gey's 溶液で赤血球を溶血させた後の脾臓内単核数を計測した。
2. 正常赤血球クリアランスの確認。コントロール及びノックイ

ンマウスより赤血球を準備して CFSE でラベルを行う。その後コントロールとノックインマウスに尾静注し、末梢血中に循環する CFSE ラベル赤血球をフローサイトメーター(FCM)にて経時的に確認することでクリアランスを求めた。

3. 脾臓マクロファージの赤血球貪食能の検討(in vitro)。オプソニン化赤血球は、正常マウス由来の赤血球を、ラビット抗マウス RBC 抗体(CEDERLANE)で反応させることで準備した。抗体による結合の程度はフローサイトメーターにて確認し実験に用いた。脾臓をコラゲナーゼで処理し、プラスチックディッシュに接着する細胞を脾臓マクロファージとして使用した。脾臓マクロファージと赤血球を共培養して貪食された赤血球を経時的に顕微鏡でカウントすることで貪食能を確認した。
4. 末梢血球の検討。6 及び 13 週齢の、コントロール及びノックインマウスより末梢血を採取し、ヘモグロビン、赤血球数、網赤血球を自動血球分析装置 ADVIA 120 (パイエル・メディカル社製)を用いて検討した。また併せて血清鉄、不飽和鉄結合能(UIBC)を自動生化学測定装置 7180(日立ハイテクノロジーズ社製)を用いて検討した。
5. 脾臓内組織ヘモジデリン沈着の検討。コントロール及びノックインマウスの脾臓をパラフォルムアルデヒドで固定し、ベルリンブルー染色を行い、脾臓内のヘモジデリン沈着を検討した。

C. 研究結果

1. 脾臓細胞重量と細胞数の確認。コントロールに比べノックインマウスの脾臓は約 1.5 倍に重量が増加していた。また、脾臓内の単核球数の変化はみられなかったが、脾臓内に貯留する赤血球数は約 2 倍となっていることが判明した。
2. 正常赤血球クリアランスの確認。色素標識された正常マウス由来の赤血球を用いて求められる赤血球の半減期はコントロールマウスで約 330 時間であったが、ノックインマウス

では約 180 時間と有意に短縮していた。

3. 脾臓マクロファージの赤血球貪食能の検討(in vitro)。オプソニン化されない赤血球に対しては、コントロール及びノックインマウスの脾臓内マクロファージはほとんど貪食を示さないが、オプソニン化赤血球に対する貪食能はノックインマウス由来のマクロファージでその程度が高かった。
4. 末梢血球の検討。ノックインマウスでは、6 及び 13 週齢とも網赤血球が増加し、ヘモグロビン、赤血球数の低下を認め、貧血を呈する事が確認された。また 13 週になると血清鉄が低下し、UIBC 上昇を認め鉄欠乏性貧血となることが判明した。
5. 脾臓内組織へモジデリン沈着の検討。ベルリンブルー染色では、コントロールに比べノックインマウスで赤脾髄を中心にへモジデリン沈着の有意な増加が確認された。

D. 考察

1. SHPS-1 ノックインマウスの末梢血の解析で貧血が確認され、脾臓組織にへモジデリン沈着が見られた。そして、オプソニン化されない正常赤血球の代謝の亢進が見られた。これらのことから、SHPS-1 ノックインマウスにおいて脾臓内のマクロファージが活性化し、正常赤血球に対しても貪食能が亢進し、赤血球代謝が亢進することが示唆された。
2. これまでの我々の検討では、SHPS-1 ノックインマウスにおいてオプソニン化赤血球のクリアランスの亢進がみられる事が確認されている。また、in vitro での脾臓及び、腹腔マクロファージを使用した解析ではオプソニン化赤血球に対する貪食が亢進する事実を確認している。これらの事から、SHPS-1 の細胞内領域の ITIM モチーフの欠損は Fc γ レセプターを介した貪食能の亢進に寄与すると考えられた。従って、CD47-SHPS-1 シグナル系は Fc γ レセプターのシグナル伝達に関して抑制性のシグナル系として機能すると考えられた。

E. 結論

CD47-SHPS-1 シグナル系は脾臓の重量や、脾臓内に貯留する赤血球数の調節に深く関与するシグナル系である。また、CD47-SHPS-1 シグナル系は脾臓内マクロファージの貪食能に深く寄与し、赤血球代謝に影響を及ぼすシグナル系であることが判明した。このような事実から、代表的自己免疫疾患である溶血性貧血の病態形成においても重要なシグナル系である事が強く示唆される。

G. 学会発表

石川智美、金子和光、富澤健史、岡上準、斉藤泰之、奥沢千絵、的崎尚、野島美久. CD47/SHP-1 シグナル系の赤血球代謝に関する機能解析, 第 34 回, 日本免疫学会学術総会, 札幌, 2004 年 12 月.

全身性エリテマトーデス末梢血 T 細胞における共刺激分子シグナル異常に関する研究

分担研究者 針谷正祥 東京医科歯科大学 医学部 臨床試験管理センター 助教授

研究要旨 T 細胞の活性化には T 細胞受容体からのシグナルに加え、共刺激分子からのシグナルが必須である。我々は全身性エリテマトーデス(SLE)末梢血 T 細胞における共刺激分子シグナル異常を解析した。CD28 共刺激および ICOS 共刺激による IFN- γ 産生能は健常人に比較して SLE 患者で有意に亢進していた。Flow cytometry による解析では、CD28 共刺激後の T 細胞中の IFN- γ 産生細胞の割合は健常人に比較して SLE 患者で有意に高く、特に CD8⁺ T 細胞で顕著であった。末梢血 memory T 細胞の亜分画を解析したところ、CD4⁺ T 細胞では effector memory T 細胞の割合が、また CD8⁺ T 細胞では effector memory T 細胞中の TEMRA の割合が有意に高値を示した。これらの T 細胞分画は CD28 共刺激に対して IFN- γ を産生する主要な分画であり、SLE における IFN- γ 産生亢進への関与が考えられた。以上のデータから、SLE 末梢血 T 細胞における IFN- γ 産生異常の免疫学的病態が明らかとなった。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス(SLE)は多彩な自己抗体の産生と多臓器の障害を特徴とする全身性自己免疫疾患である。SLE の病態形成にはリンパ球機能異常が深く関与することが、これまでの多くの研究で明らかにされて来た。我々は本研究班の 1 年目では新規共刺激分子である inducible costimulator (ICOS)に注目し、SLE における ICOS の発現と機能を検討した。SLE 患者では、末梢血 T 細胞の ICOS 発現が亢進し、抗 CD3 抗体+抗 ICOS 抗体(ICOS 共刺激)刺激下および抗 CD3 抗体+抗 CD28 抗体(CD28 共刺激)刺激下での SLE 患者末梢血 T 細胞の増殖能、interferon- γ (IFN- γ)産生能が健常人に比べ、有意に亢進している事を見出した。2 年目の研究では、ICOS 共刺激および CD28 共刺激は MAPK、PI3K、NF κ B、p70S6 kinase 経路を活性化することおよび、SLE における IFN- γ 産生亢進機序として転写因子 T-bet の関与の可能性を示した。

これらの研究結果を受けて本年度は、SLE 患者末梢血 T 細胞における IFN- γ 産生細胞割合および memory T 細胞分画の異常について検討した。

B. 研究方法

活動期 SLE 患者 17 例、非活動期 SLE 患者 30 例、健常人 26 例を対象とした。末梢血よりリンパ球を分離し、MACS system による negative selection により T 細胞を精製した。T 細胞の刺激は、固相化抗 CD3 抗体+固相

化抗 ICOS 抗体または固相化抗 CD3 抗体+液相抗 CD28 抗体により行った。細胞増殖能は ³H-thymidine の取り込みにより測定した。培養上清中のサイトカインは ELISA 法にて測定した。分離直後または刺激後 6 時間の末梢血 T 細胞より total RNA を抽出し、cDNA を作成した。定量 PCR 法によりサイトカイン mRNA を定量した。T 細胞中の IFN- γ 産生細胞の割合は T 細胞を固相化抗 CD3 抗体+液相抗 CD28 抗体で 6 時間刺激後に細胞内 IFN- γ を染色し flow cytometry で解析した。

(倫理面への配慮)

採血時に全ての症例およびボランティアより試験参加の同意を得た。

C. 研究結果

1. SLE における interferon- γ 産生亢進

末梢血 T 細胞を無刺激で 72 時間培養した上清中の IFN- γ 産生量は活動期 SLE 0.85 +/- 0.98 pg/ml、非活動期 SLE 0.09 +/- 0.29 pg/ml、健常人 0.19 +/- 0.63 pg/ml であり、活動期 SLE で有意に高値を示した (活動期 SLE vs. 健常人 p<0.01、活動期 SLE vs. 非活動期 SLE p<0.01)。次に、CD28 共刺激による末梢血 T 細胞の IFN- γ 産生能を非活動期 SLE と健常人で比較した。mRNA レベル(p=0.01)、蛋白レベル(p=0.03)のいずれにおいても、非活動期 SLE 末梢血 T 細胞は健常人末梢血 T 細胞に比較して CD28 共刺

激による IFN- γ 発現が有意に亢進していた。また、健康人・非活動期 SLE 患者を併せて、上清中の IFN- γ 濃度と刺激 6 時間後の IFN- γ mRNA 量の相関を取ると、有意な正の相関($p=0.03$, $R^2=0.26$)が認められた(図1)。

次に、CD28 共刺激後の IFN- γ 産生細胞の割合を flow cytometry で解析した。非活動期 SLE 末梢血 T 細胞は健康人末梢血 T 細胞に比較して CD28 共刺激による IFN- γ 発現細胞の割合(CD3+ IFN- γ +/CD3+、CD8+ IFN- γ +/CD8+)が有意に亢進していた(図2)。

末梢血 T 細胞に CD28 共刺激を加えると、memory T 細胞から IFN- γ が産生される。また、最近の研究により CD4+ memory T 細胞は CD45RA- CCR7+ の central memory T 細胞(TCM)と CD45RA- CCR7- の effector memory T 細胞(TEM)に、CD8+ memory T 細胞は同様に TCM、TEM および CD45RA+ CCR7- の TEMRA に分画されることが報告されている。そこで、SLE 末梢血 T 細胞におけるこれらの memory T 細胞亜分画の割合を検討した。非活動期 SLE 末梢血 T 細胞は健康人に比較して CD4+ TEM($p=0.011$)および CD8+ TEMRA($p=0.015$)の割合が有意に高値を示した(図3)。

D. 考察

IFN- γ は単球・マクロファージの主要な活性化因子である。SLE モデルマウスにおける検討では IFN- γ 遺伝子または IFN- γ 受容体遺伝子をノックアウトすることにより自己抗体産生の減少、腎病変の改善、生存率の向上が報告されている。また、ヒト SLE においても、特に IFN- γ 産生亢進とループス腎炎との関連が報告されている。

活動期 SLE 末梢血 T 細胞の IFN- γ 産生量は健康人に比較して有意に高く、また、非活動期 SLE 末梢血 T 細胞は CD28 共刺激により健康人に比較して有意に多量の IFN- γ を産生したことから、SLE 末梢血 T 細胞は高い IFN- γ 産生能を有していると考えられる。Flow cytometry の結果から、この産生亢進は IFN- γ 産生 T 細胞の割合、特に CD8+ T 細胞中の IFN- γ 産生 T 細胞の割合増加によると考えられた。

IFN- γ は主に memory T 細胞、特に CD4+ T 細胞では TEM、CD8+ T 細胞では TEM および TEMRA により産生される。SLE 患者末梢血 T 細胞では健康人に比較し

て CD4+ TEM および CD8+ TEMRA の割合が高値を示した。SLE では IFN- γ / (CD8+ TEM + CD8+ TEMRA) 比が健康人に比較して有意に高く (data not shown)、T-bet mRNA / GATA-3 mRNA 比の上昇(平成 15 年度研究成果)と併せて、SLE における IFN- γ 産生細胞への分化亢進の可能性が示唆された。

E. 結論

SLE 末梢血 T 細胞では CD4+ TEM および CD8+ TEMRA の割合が高値を示し CD28 共刺激に対する IFN- γ 産生能が亢進している。その機序として IFN- γ 産生 T 細胞の割合の増加が考えられ、その増加には転写因子 T-bet とその下流の HLX が重要な働きをしている。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Inducible costimulator contributes to abnormal cytokine and autoantibody production in systemic lupus erythematosus. Submitted.
2. 針谷正祥、川本 学 SLE の病態形成における IFN- γ 発現の重要性 臨床免疫 42(6):681-685, 2004
3. 針谷正祥、川本 学:SLE 患者 T 細胞における CD28 分子の発現とシグナル伝達異常 分子リウマチ 1(3):199-205, 2004
4. 針谷正祥:難治性病態の治療ガイドライン ループス腎炎 診断と治療 92(2):294-299, 2004
5. 針谷正祥:新たな costimulatory molecule-B and T lymphocyte attenuator: BTLA- 炎症と免疫 12(2): 114-116, 2004
6. 針谷正祥:T 細胞副刺激分子 Inducible Costimulator とその異常 炎症と免疫 12(1):103-110, 2004
7. 針谷正祥 難治性病態の治療 CNS ループス Mebio 20(4):55-60, 2003

2. 学会発表

1. Kawamoto, M., et al. Overexpression of inducible

co-stimulator (ICOS) on peripheral blood T cells and its contribution to abnormal T cell function in patients with systemic lupus erythematosus. 66th annual scientific meeting of American College of Rheumatology. New Orleans, Louisiana, 2002

2. Harigai, M. et al. Overexpression of interferon- γ by peripheral blood T cells from patients with systemic lupus erythematosus in response to T cell receptor ligation. 第 33 回日本免疫学会総会・学術集会 福岡 2003

H. 知的財産権の出願・登録

なし

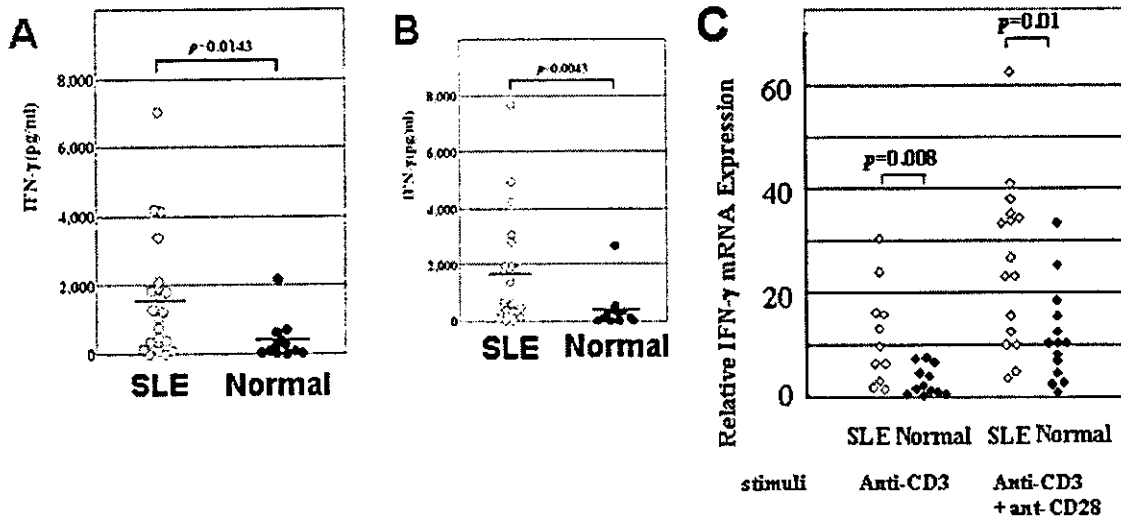


図1 SLE末梢血T細胞におけるIFN- γ 発現亢進

末梢血T細胞をCD28共刺激(A)またはICOS共刺激(B)により72時間刺激し、培養上清中のIFN- γ 産生量を定量した。SLE末梢血T細胞は有意に多量のIFN- γ を産生していた。末梢血T細胞を抗CD3抗体単独または抗CD28抗体による共刺激にて6時間刺激後、IFN- γ mRNAレベルを定量PCR法にて定量した(C)。SLE末梢血T細胞のIFN- γ mRNAレベルは健常人よりも有意に高値を示した。

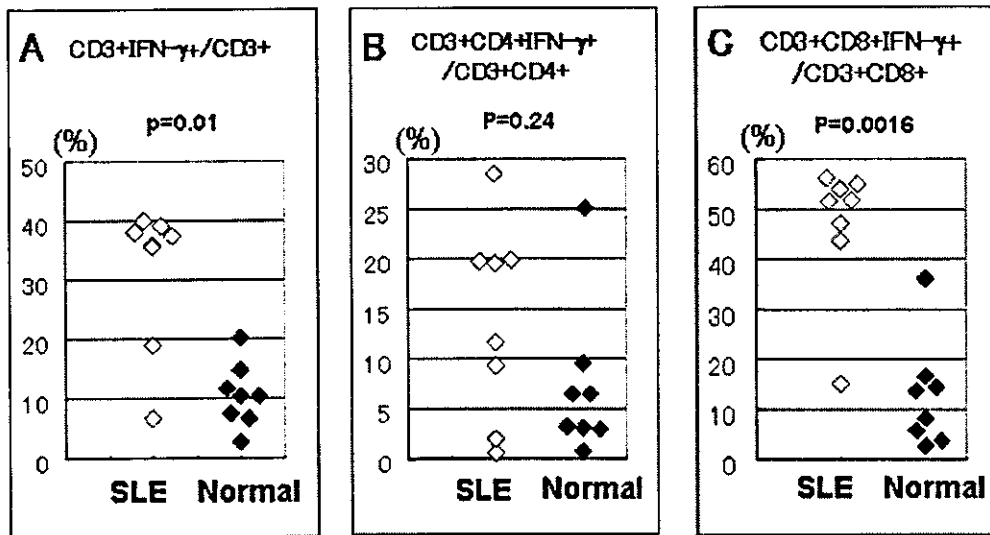


図2 SLE末梢血T細胞におけるIFN- γ 発現細胞の割合

末梢血T細胞をCD28共刺激により6時間刺激し、細胞内染色によりIFN- γ 発現細胞を測定した。同時に細胞表面マーカーを染色し、CD3+細胞(A)、CD3+CD4+細胞(B)、CD3+CD8+細胞(C)におけるIFN- γ 発現細胞の割合を算出した。SLEでは健常人に比較して、CD3+T細胞、CD3+CD8+T細胞におけるIFN- γ 発現細胞の割合が有意に高値を示した。

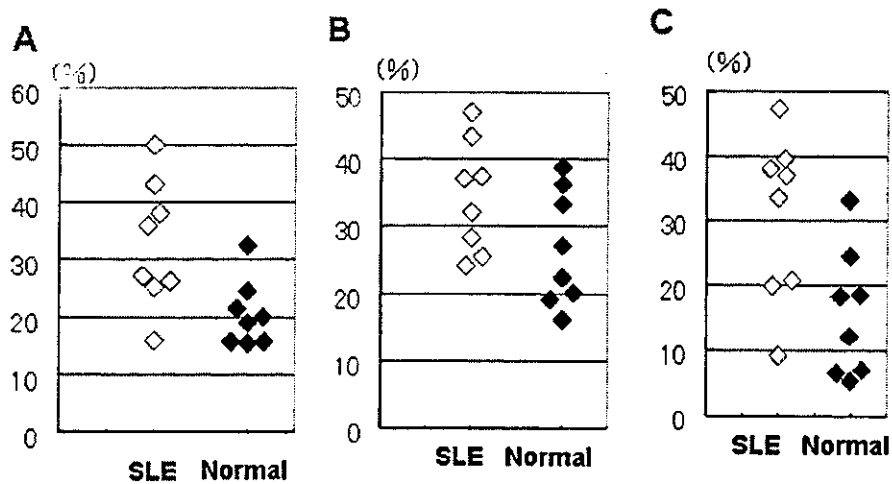


図3 SLE 末梢血 T 細胞における memory T 細胞の亜分画割合

末梢血 T 細胞を 4 重染色し、memory T 細胞亜分画の割合を測定した。CD3+CD4+CD45RA-CCR7-/CD3+CD4+ (%) (CD3+CD4+T 細胞中の CD3+CD4+TEM の割合、 $p=0.011$) (A)、CD3+CD8+CD45RA-CCR7-/CD3+CD8+ (%) (CD3+CD8+T 細胞中の CD3+CD8+TEM の割合、 $p=0.09$) (B)、CD3+CD8+CD45RA+CCR7-/CD3+CD8+ (%) (CD3+CD8+T 細胞中の CD3+CD8+TEMRA の割合、 $p=0.015$) (C) を算出した。SLE では健常人に比較して、CD3+CD4+TEM の割合および CD3+CD8+TEMRA の割合が有意に高値を示した。

免疫難病における癌関連遺伝子産物の機能解析及びこれらの分子を標的とした治療に関する研究

分担研究者 南 康博 神戸大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

免疫難病における癌関連遺伝子産物を標的とした分子標的治療への足掛かりを得る目的で、メトトレキサートをはじめとする核酸代謝阻害剤による免疫細胞の DNA 損傷応答に関わる癌関連遺伝子産物の機能への影響を検討した。その結果、各阻害剤によりチェックポイントキナーゼ Chk1, Chk2 の活性化誘導能ならびに細胞周期停止へ与える効果が異なることが明らかとなった。今後、免疫難病の免疫細胞を用いて、各薬剤の作用を詳細に検討することにより、より効果的な治療への応用が期待される。

A. 研究目的

本研究では、膠原病における免疫細胞の DNA 損傷応答シグナル伝達の異常と病態との関連を明らかにするとともに、メトトレキサートをはじめとする核酸代謝阻害剤による免疫細胞における DNA 損傷応答に関わる核内癌関連分子群(Chk1, Chk2 キナーゼ、Wip1 ホスファターゼ等)の発現・機能への影響ならびに免疫細胞の機能へ与える影響を明らかにし、これらの阻害剤の膠原病治療への適応について検討することを目的とする。

B. 研究方法

ヒト T 細胞株 Jurkat 細胞をピリミジン代謝阻害剤であるメトトレキサート(MTX)、レフロミド(LEF)またはプリン代謝阻害剤であるミコフェノール酸(MPA)で処理し、Jurkat 細胞における Chk1, Chk2 キナーゼ等の癌関連分子の経時的活性変動をリン酸化部位特異的抗体を用いて解析するとともに、これらの阻害剤による Jurkat 細胞の細胞増殖・細胞死・細胞周期へ与える影響を解析する。また、健常者由来または SLE などの膠原病患者由来のリンパ球を用いて、MTX、LEF、MPA 処理による癌関連分子の活性ならびに細胞機能(細胞増殖・細胞死・細胞周期)へ与える影響を比較検討する。

(倫理面への配慮)

患者由来の検体・遺伝子を用いる実験は行って

おりません。

C. 研究結果

まず MTX、LEF、MPA について各々(至適血中濃度を参考に)様々な濃度にて Jurkat 細胞へ添加し、各阻害剤について Jurkat 細胞の細胞増殖を抑制する最少終濃度を決定し、その終濃度にて阻害剤添加実験を行った。Jurkat 細胞に MTX(0.032・M)、MPA(4・M) 添加後、24 時間後をピークに Chk1 キナーゼの活性化が認められたが、その活性は以後速やかに消失した。それに対し、LEF(40・M)添加の場合には、24 時間後をピークに Chk1 の活性化が認められたが、その活性化は 72 時間後まで持続していた。Chk2 キナーゼへの影響については、これらの阻害剤の間で明らかな差は認められなかった。また、MTX、MPA 処理後 Jurkat 細胞は G1 期に細胞周期停止が観察されたが、LEF 処理の場合には S 期での細胞周期停止が認められた。

D. 考察

Jurkat 細胞を用いた解析結果から、核酸代謝阻害剤(MTX, MPA, LEF)により DNA 損傷応答シグナル伝達系への作用ならびに細胞機能(細胞周期)への影響が異なることが明らかとなった。今後健常者由来・SLE などの膠原病患者由来のリン

パ球を用いて、MTX, MPA, LEF 処理の DNA 損傷応答シグナル伝達系、細胞機能への影響を比較検討することが急務と考えられる。また、今回解析を行った Chk1, Chk2 キナーゼに加え、これらキナーゼのエフェクター分子 (p53, Cdc25, PML, E2F-1 等) への影響についても比較検討することが重要と思われる。

E. 結論

本研究での 3 種の核酸代謝阻害剤 (DNA 損傷誘導剤) を用いた解析から、阻害剤により DNA 損傷応答シグナル伝達系・細胞機能に与える影響が異なることが明らかとなった。今後、他の核酸代謝阻害剤 (DNA 損傷誘導剤) についても健常者・罹患者由来のリンパ球を用い同様の解析を行うことにより、より適切かつ効果的な阻害剤による膠原病治療への基礎的知見が得られるものと思われる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Schwabe, G. C., Trepczik, B., Suring, K., Brieske, N., Tucker, A., Sharpe, P. T., Minami, Y., and Mundlos, S.: The Ror2 knock out mouse as a model for the developmental pathology of autosomal recessive Robinow syndrome. *Dev. Dyn.* 229: 400-410, 2004.

Kondo, T., Kobayashi, M., Tanaka, J., Yokoyama, A., Suzuki, S., Kato, N., Onozawa, M., Chiba, K., Hashino, S., Imamura, M., Minami, Y., Minamino, N., and Asaka, M. Rapid degradation of Cdt1 upon UV-induced DNA damage is mediated by SCFSkp2 complex. *J. Biol. Chem.* 279: 27315-27319, 2004.

Kani, S., Oishi, I., Yamamoto, H., Suzuki, H., Yoda, A., Suzuki, H., Nomachi, A., Iozumi, K., Nishita, M., Takumi, T., Kikuchi, A., and Minami, Y.: The receptor tyrosine kinase Ror2 associates with and is activated by casein kinase I α . *J. Biol.*

Chem. 279: 50102-50109, 2004.

Sammar, M., Stricker, S., Schwabe, G., Seiber, C., Hartung, A., Hanke, M., Oishi, I., Pohl, J., Minami, Y., Sebald, W., Mundlos, S., and Knaus, P.: Modulation of GDF5/BRI-1 signaling through interaction with the tyrosine kinase receptor Ror2. *Genes Cells* 9: 1227-1238, 2004.

Kato, N., Fujimoto, H., Yoda, A., Oishi, I., Matsumura, N., Kondo, T., Tsukada, J., Tanaka, Y., Imamura, M., and Minami, Y.: Regulation of Chk2 gene expression in lymphoid malignancies: involvement of epigenetic mechanisms in Hodgkin's lymphoma cell lines. *Cell Death Diff.* 2 (S): 153-161, 2004.

Sakakida, Y., Miyamoto, Y., Nagoshi, E., Akashi, M., Nakamura, T. J., Mamino, T., Kasahara, M., Minami, Y., Yoneda, Y., and Takumi, T.: Importin mediates nuclear transport of a mammalian circadian clock component, mCRY2, together with mPER2 through a bipartite nuclear localization signal. *J. Biol. Chem.*, in press, 2005.

2. 学会発表

大西 伸幸、依田 成玄、武川 睦寛、近藤 健、西田 満、南 康博: DNA 損傷応答における Wip1 による細胞周期チェックポイントの解除機構、第 63 回日本癌学会総会 (ワークショップ)、2004
南 康博、大西 伸幸、藤本 浩子、西田 満、依田 成玄: 放射線による DNA 損傷応答に伴う細胞周期チェックポイントのオン・オフ機構、第 47 回日本放射線影響学会大会 (シンポジウム)、2004

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

SLE リンパ球における免疫シグナル異常に関する研究

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

代表的な免疫難病である全身性エリテマトーデス(SLE)の発症過程には、自己反応性 T 細胞のシグナルの異常な賦活化が関与する。T 細胞のシグナル賦活化には TCR 共刺激分子が関与するが、昨年度まで、SLE の T 細胞では、代表的な共刺激分子である CD28 の減弱、或は、消失を見出し、正常 T 細胞と異なる刺激伝達系の存在を示してきた。本年度は、これに対し、活動期 SLE の T 細胞では、CD28 の低下に逆比例して、 β_1 インテグリン(CD29)-FAK を介するシグナルが量的、質的に亢進し、CD40L 等の他の共刺激分子や IL-2 等の発現誘導を介して、CD28 非依存性に自己反応性 T 細胞の過剰な活性化を齎す事が明らかになった。さらに、癌抑制遺伝子 PTEN は、FAK の活性化を負に制御することにより、自己反応性 T 細胞の活性化の抑制を介して免疫シグナル異常の是正を目的とした病態制御に有用と考えられた。以上、SLE の T 細胞のシグナル異常の機序として、T 細胞の TCR 共刺激系のシグナル異常活性化が自己反応性 T 細胞活性化を齎し、疾病を引き起こすことが解明された。今後、斯様な免疫シグナル異常の是正を目的として、新規治療軸の確立を目指す。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス(SLE)の病態形成に於いては、自己反応性 T 細胞の活性化と B 細胞の自己抗体産生が中心的に関与する。自己反応性 T 細胞のシグナル賦活化には共刺激分子シグナルが関与するが、SLE 患者の T 細胞では、代表的な共刺激分子である CD28 発現の減少～消失が報告され、正常 T 細胞と異なる刺激伝達系の存在が示唆されてきた。昨年度まで、SLE では CD28 の発現は減弱し、活動期の症例やループス腎炎等の臓器病変を有する症例で特に顕著である事を示してきた。また、CD28 陰性 T 細胞は、マイトゲンなどでも活性化できず、その活性化過程に於いては、共刺激分子としての CD28 の役割は軽度で、相補する分子や刺激伝達系の存在が示唆された。本年度は、SLE 患者 T 細胞では、 β_1 インテグリン(CD29)の発現が健常人 T 細胞と比し 2~3 倍に増強し、その発現量は疾患活動性に比例することに着目し、SLE に於ける CD29 の発現と臨床病態の関連を解明するとともに、

FAK の優勢抑制型変異体、および PTEN の遺伝子導入を行い、自己反応性 T 細胞の活性化の制御を試みた。

B. 方法

健常人および SLE 患者末梢血から CD3 陽性 T 細胞を精製した。CD29、CD28、CD40L 等の表面機能抗原の発現量をフローサイトメトリーで測定し、それらの発現量と SLE 患者の臨床評価項目(ESR、CH50、SLEDAI 等)や臓器病変の進展との関連性を検討した。さらに、SLE 患者由来の T 細胞内に FAK の野生型および優勢抑制型変異体、および PTEN 遺伝子を Nucleofection で遺伝子導入し、CD29 単独刺激(特異抗体による架橋刺激)、または CD3+CD29 の共刺激条件下で誘導される細胞表面抗原(CD40L、CD69、Fas)の発現、細胞増殖活性を評価した。

(倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、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属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. 結果

①SLE 患者 T 細胞では、健常人に比し CD28 発現の著明な低下、CD29 発現の著明な増強を認めた。②ループス腎炎を有する症例で、これらの発現変化が統計学的に有意であった(p<0.01)。③CD29 の発現量は、患者血清補体値(CH50)と、負の相関関係を示した(p<0.05)。④SLE 患者 T 細胞は、無刺激下で健常人に比し、CD40L、CD69、Fas を高発現したが、CD29 単独刺激で CD40L、CD69 の発現、および細胞増殖がさらに増強された。⑤正常、及び SLE の T 細胞に於ける CD29 刺激を介する CD40L 発現や細胞増殖の誘導は、FAK の野生型遺伝子を導入することでさらに増強し、優勢抑制型変異体である FAT、FRNK を導入することで完全に阻害された。⑥癌抑制遺伝子である野生型 PTEN の SLE 患者 T 細胞内への遺伝子導入により、CD40L の発現が完全に阻害された。

D. 考察

活動期 SLE 患者の T 細胞では、CD28 の著明な発現の減弱に反し、CD29 の著明な発現増強を認めた。SLE 患者 T 細胞では、正常 T 細胞と異なり、CD29 単独刺激で CD40L の発現増強と細胞増殖が誘導され、 β 1-FAK を介する賦活化シグナルの亢進は、CD28 非依存性の共刺激として作用し、自己反応性 T 細胞の過剰な活性化に寄与する事が示された。さらに、斯様な自己反応性 T 細胞の活性化は FAK の優勢抑制型変異体、或は、PTEN の遺伝子導入により、特異的に制御しうる事が示された。実際、リンパ球特異的に PTEN を欠損させると、SLE 様の自己免疫疾患の発症、腫瘍化が引き起こされる事が報告されており、CD29-FAK の賦活化シグナルと同時に PTEN の欠損が、SLE に於ける自己反応性 T 細胞の過剰な活性化に重要

な役割を担う可能性が示唆される。実際、CD29 発現量は SLE 患者血清補体値と負相関し、ループス腎炎合併例で CD29 は有意に発現増強し、CD29 陽性 T 細胞の病態組織への集積との関連性も示唆された。また、SLE モデルマウスに於ける腎炎発症早期の糸球体組織に於ける FAK チロシンリン酸化の亢進も本結果を支持するものである。

E. 結論

活動期 SLE 患者 T 細胞では、CD28 の低下に逆比例して、 β 1 インテグリン(CD29)-FAK を介するシグナルが量的、質的に亢進し、CD40L 等の他の共刺激分子の発現を誘導し、CD28 非依存性に自己反応性 T 細胞の過剰な活性化を齎す事が明らかになった。さらに、癌抑制遺伝子 PTEN は、FAK の活性化を負に制御することにより、自己反応性 T 細胞の活性化の抑制を介して免疫シグナル異常の是正を目的とした病態制御に有用と考えられた。

F.健康危険情報

特になし。

G.研究発表

1. 論文発表

1. 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* (2004) 43, 479-485
2. 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* (2004) 50, 2450-2458
3. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tsukada J, Kohno K, Tanaka Y. Transcriptional regulation of multidrug resistance-1 gene by

interleukin-2 in lymphocytes. *Genes Cells* (2004) 9, 1265-1273

4. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Tanaka Y. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology* (2005) 44: 176-182
5. Nakayamada S, Kurose K, Saito K, Mogami A, Tanaka Y. Small GTP-binding protein rho-mediated signaling promotes proliferation of rheumatoid synovial fibroblasts. *Arthritis Res Ther* (in press)
6. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y. Clinical relevance of expression of P-glycoprotein on peripheral lymphocytes to steroid-resistance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (in press)
7. 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
8. 田中良哉. 抗 CD20 抗体による自己免疫疾患の治療. *日本臨床免疫学会雑誌*(2004) 27, 28-33
9. 田中良哉. 抗 CD20 抗体による SLE の治療. *リウマチ科*(2004) 31, 559-565
10. 田中良哉. 生物学的製剤(リツキシマブを中心に). *医学のあゆみ*(2004) 210, 1034-1039
11. 田中良哉. 抗 CD20 抗体. *分子リウマチ*(2004) 1, 32-38 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. 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
13. 田中良哉, 辻村静代. P-糖蛋白質に対するシクロスポリンの作用:薬剤抵抗性の克服. *医薬ジャーナル* (2004) 40, 178-182

2. 学会発表

1. Tanaka Y, Tokunaga M, Fujii K, Nawata M, Tsujimura S, Nakayamada S, Saito K. A pilot study of

rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus: relevance of quantity and quality reduction of B cells to clinical efficacy. The 68th National Meeting of American college of Rheumatology, San Antonio. 平成 16 年 10 月

2. Tsujimura S, Saito K, Azuma T, Nakayamada S, Nakano K, Tsukada J, Tanaka Y. Clinical relevance of Characteristically High Expression of P-glycoprotein on Peripheral Lymphocytes to Steroid-Resistance in Refractory SLE Patients The 68th National Meeting of American college of Rheumatology, San Antonio. 平成 16 年 10 月
3. 田中良哉. 生物学的製剤. 第 48 回日本リウマチ学会総会学術集会(シンポジウム)岡山 平成 16 年 4 月
4. 田中良哉. B 細胞を標的とした治療. 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会(シンポジウム)前橋 平成 16 年 5 月
5. 田中良哉. 関節リウマチ治療のこれからの流れ. 第 32 回日本臨床免疫学会総会(教育講演)東京. 平成 16 年 10 月
6. 田中良哉. SLE の治療の進歩:新規生物学的製剤の可能性. 第 54 回日本アレルギー学会総会(シンポジウム)横浜. 平成 16 年 11 月
7. 田中良哉. 炎症メディエーターを標的とした自己免疫疾患の治療の進歩. 第 24 回日本アフェレシス学会(特別講演)浦安. 平成 16 年 11 月
8. 田中良哉. 関節リウマチ治療の新展開. 平成 17 年度日本内科学会生涯教育講演会(教育講演)大阪. 平成 17 年 2 月

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

田中良哉

- Fas 抗原発現増強剤(特開 2003-171282)

2. 実用新案登録

該当なし。

3.その他

該当なし。

【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 ***

書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍名	書籍全体の編集者名	出版社名(出版地)	ページ	出版年
田中良哉	炎症細胞遊走の分子機構	Annual Review呼吸器 2004	工藤翔二、土屋了介、金沢実、大田健	中外医学社(東京)	22-27	2004
田中良哉	細胞接着分子	骨粗鬆症—基礎・臨床研究の新しいパラダイム	折茂肇	日本臨床社(大阪)	125-130	2004
田中良哉	膠原病・リウマチ性疾患に起因する骨粗鬆症	骨粗鬆症—基礎・臨床研究の新しいパラダイム	折茂肇	日本臨床社(大阪)	677-682	2004
田中良哉	関節リウマチ	ステロイド骨粗鬆症の治療マニュアル	名和田新	ライフサイエンス出版(東京)	38-45	2004
田中良哉	炎症反応(赤沈、CRP)	リウマチ膠原病診療チェックリスト	三森経世	文光堂(東京)	115-118	2004
田中良哉	白血球-内皮細胞間接着の分子機構	プロテアーゼインヒビター基礎編	吉川敏一	診断と治療社(東京)	198-203	2004
田中良哉	免疫疾患とT細胞の役割	内科診療Q&A『免疫疾患』	永野允、原田尚、藤澤冽、永野志朗	六法出版(東京)	46-49	2004
田中良哉	関節リウマチに対する抗TNF α 抗体療法の有用性と問題点	サイトカイン - state of arts	宮坂信之、宮島篤	医歯薬出版(東京)	345-348	2004
田中良哉	多発性筋炎/皮膚筋炎	実地医家のためのステロイド薬の上手な使い方	河合眞一	永井書店(大阪)	75-81	2004
田中良哉	血管炎	リウマチ入門第12版	日本リウマチ学会	日本リウマチ学会(東京)	451-483	2004
田中良哉	関節リウマチ(悪性関節リウマチを含む)	法研	高久文磨、猿田享男、北村惣一郎、福井次夫	家庭医学大百科(東京)	2907-2911	2004
田中良哉	CD20抗体の自己免疫疾患の治療への応用	免疫2005	岸本忠三	中山書店(東京)	400-406	2004
田中良哉、藤井幸一	炎症と修復	21世紀の胃の炎症学	浅香正博	メディカルレビュー社(大阪)	301-310	2004
田中良哉	成人発症スチル病	今日の治療指針 2005年版	山口徹、北原光夫	医学書院(東京)	586-587	2005
田中良哉	抗CD20抗体	関節リウマチ: 成因研究から治療の新時代へ	宮坂信之	日本臨床社(大阪)	544-548	2005
田中良哉	ステロイド薬	関節リウマチ: 成因研究から治療の新時代へ	宮坂信之	日本臨床社(大阪)	468-472	2005
梅原久範	ケモカインと接着分子	内科診療Q&A		六法出版(東京)	12	2004
梅原久範	全身性強皮症	リウマチ・膠原病診療チェックリスト	三森経世	文光堂(東京)	167-173	2004
Sakaguchi, N., Sakaguchi, S.	Altered thymic T-cell selection due to a spontaneous mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis.	Immunology 2004	Medimond S.r.l.	Bologna, Italy.	239-242	2004

著者氏名	論文タイトル名	書籍名	書籍全体の編集者名	出版社名(出版地)	ページ	出版年
Setoguchi, R., Sakaguchi, S	A crucial role of IL-2 in the homeostatic maintenance of CD25+CD4+ regulatory T cells.	Immunology 2004	Medimond S. r. l.	Bologna, Italy.	341-344	2004
Ono, M., Sakaguchi, S.	Induction of fatal autoimmune myocarditis and other autoimmune diseases in mice by depleting Foxp3-expressing T cells.	Immunology 2004	Medimond S. r. l.	Bologna, Italy.	193-195	2004
高柳広	RANKLによる破骨細胞分化制御	Annual Review 2004 免疫	奥村康、平野俊夫、佐藤昇志	中外医学社(東京)	143-153	2004
津坂憲政、竹内勤	分子生物学からみた炎症	21世紀の胃の炎症学	浅香正博	メディカルレビュー(東京)	209-217	2005
Nishimoto N, Kishimoto T.	Is IL-6 a therapeutic target-	Progress in Inflammation Research.	Basel	Birkhauser Verlag	89-106	2004
野島美久	全身性エリテマトーデス	インフォームドコンセントのための図説シリーズ	竹原和彦、近藤啓文	医薬ジャーナル社(東京)	38-43	2004
野島美久	免疫血清検査	臨床検査データブック	高久史磨	医学書院(東京)	377-386	2005
針谷正祥	LIGHT(TNFスーパーファミリーメンバー)	サイトカイン・ケモカインのすべてー基礎から最新情報まで	笠倉新平、松島綱治	日本医学館(東京)	70-78	2004
Oishi, I., Minami, Y.	Functional analysis of Ror and Wnt signaling.	Genetically Engineered Mice.		Iowa State University Press(IA)	in press	2005
加藤菜穂子、南康博	細胞周期調節による癌の治療	分子標的療法の基礎と臨床		篠原出版(東京)	印刷中	2005

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okada Y, Tanaka Y.	Immune signals in the context of secondary osteoporosis.	Histol Histopathol	19	863-866	2004
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	31	163-166	2004
Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tokunaga M, Tsujimura S, Nakatsuka K, Adachi T, Tanaka Y.	Detection of <i>Pneumocystis carinii</i> by DNA amplification in patients with connective tissue diseases: Reevaluation of clinical features of <i>P. carinii</i> pneumonia in rheumatic diseases.	Rheumatology	43	479-485	2004
Okada Y, Tsukada J, Nakano K, Tonai S, Mine S, Tanaka Y.	Macrophage inflammatory protein-1 α induces hypercalcemia in adult T-cell leukemia.	J Bone Miner Res	19	1105-1111	2004
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	50	2450-2458	2004
Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tsukada J, Kohno K, Tanaka Y.	Transcriptional regulation of multidrug resistance-1 gene by interleukin-2 in lymphocytes.	Genes Cells	9	1265-1273	2004
Kato N, Fujimoto H, Yoda A, Oishi I, Matsuura N, Kondo T, Tsukada J, Tanaka Y, Imamura M, Minami Y.	Regulation of Chk2 gene expression in lymphoid malignancies: involvement of epigenetic mechanisms in Hodgkin's lymphoma cell lines.	Cell Death Differ	11	S153-S161	2004
Ehara Y, Sakurai D, Tsuchiya N, Nakano K, Tanaka Y, Yamaguchi A, Tokunaga K	Follistatin-related protein gene (FRP) is expressed in the synovial tissues of rheumatoid arthritis, but its polymorphisms are not associated with genetic susceptibility.	Clin Exp Rheumatol	22	707-712	2004
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	19	165-167	2004
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	22	159-162	2004
Kanda K, Okada Y, Tanikawa T, Morita E, Tsurudome Y, Konishi T, Tanaka Y.	A rare case of primary hyperparathyroidism with clear cell adenoma.	Endocrine J	51	207-212	2004
Higashi T, Tsukada J, Kato C, Iwashige A, Mizobe T, Machida S, Morimoto H, Ogawa R, Toda T, Tanaka Y.	Imatinib mesylate-sensitive blast crisis immediately after discontinuation of imatinib mesylate therapy in chronic myelogenous leukemia.	Am J Hematol	76	275-278	2004
Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Tanaka Y.	Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab.	Rheumatology		in press	

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsujimura S, Saito K, Tokunaga M, Nakatsuka K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y.	Overcoming treatment unresponsiveness mediated by P-glycoprotein overexpression on lymphocytes in refractory active systemic lupus erythematosus.	Mod Rheumatol		in press	
Tanaka Y, Nakayamada S, Okada Y.	Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation	Current Drug targets-inflammation and allergy		in press	
Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y.	Clinical relevance of expression of P-glycoprotein on peripheral lymphocytes to steroid-resistance in systemic lupus erythematosus.	Arthritis Rheum		in press	
三澤晴雄, 岡田洋右, 神田加壽子, 森田恵美子, 田中良哉	当科における糖尿病初期治療と血糖コントロール状況の変遷	臨床と研究	81	111-114	2004
毛利文彦, 塚田順一, 森本浩章, 東文裕, 溝部貴光, 太田貴徳, 窪田歩, 戸田陽子, 小川亮介, 田中良哉	成人T細胞白血病における高カルシウム血症に対するビスホスフォネートの有効性	癌の臨床	50	731-736	2004
三澤晴雄, 岡田洋右, 神田加壽子, 森田恵美子, 田中良哉	軽症2型糖尿病に対するナテグリニドまたはボグリボースの使用に関する臨床的相違	Diabetes Frontier	15	717-720	2004
田中良哉	抗CD20抗体	Current Therapy	22	53-58	2004
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	93	319-325	2004
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	41	204-209	2004
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	208	349-354	2004
田中良哉	炎症細胞の遊走のメカニズム	アレルギーの臨床	24	239-243	2004
田中良哉	混合性結合組織病	臨床と研究	81	63-66	2004
田中良哉	抗CD20抗体による自己免疫疾患の治療	日本臨床免疫学会雑誌	27	28-33	2004
田中良哉	抗CD20抗体	分子リウマチ	1	32-38	2004
齋藤和義, 田中良哉	膠原病疾患に併発するカリニ肺炎の早期診断と1次予防	九州リウマチ	23	134-138	2004
岡田洋右, 田中良哉	産業医から見た糖尿病治療の留意点: 早期発見と早期治療	新薬と治療	24	239-243	2004
田中良哉	関節リウマチと全身性エリテマトーデスの治療への抗体医薬の導入	血液・腫瘍科	48	523-531	2004
田中良哉	骨芽細胞上の接着分子発現と活性の制御	臨床免疫	41	538-544	2004
岡田洋右, 田中良哉	膠原病患者に於けるステロイド性骨粗鬆症発症の一次予防の検討	Osteoporosis Japan	12	321-322	2004
田中良哉	抗リウマチ薬 — 最近の動向	医学のあゆみ	209	821-826	2004
田中良哉, 辻村静代	P-糖蛋白質に対するシクロスポリンの作用: 薬剤抵抗性の克服	医薬ジャーナル	40	178-182	2004
田中良哉	自己免疫疾患とケモカイン	臨床化学	33	73-78	2004

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
田中良哉	MMP(マトリックスメタロプロテアーゼ)に対するシクロスポリンの作用	医薬ジャーナル	40	188-193	2004
田中良哉	抗CD20抗体によるSLEの治療	リウマチ科	31	559-565	2004
田中良哉、中山田真吾、岡田洋右	ビスホスフォネート製剤によるステロイド性骨粗鬆症の一次予防	DENTAL DIAMOND	29	68-69	2004
田中良哉	免疫シグナルと続発性骨粗鬆症の病態機構	日本整形外科学会雑誌	78	411-416	2004
田中良哉、齋藤和義	膠原病に於ける日和見感染症とその対策	日本内科学会雑誌	93	1654-1659	2004
中山田真吾、田中良哉	SLE患者T細胞活性化におけるCD29(β 1インテグリン)-FAKシグナル伝達系の役割	分子リウマチ	1	192-198	2004
田中良哉	ステロイド療法とその副作用対策	日本臨床	62	1867-1872	2004
田中良哉	生物学的製剤(リツキシマブを中心に)	医学のあゆみ	210	1034-1039	2004
田中良哉	抗リウマチ薬	予防医学	34	99-105	2004
田中良哉	膠原病・リウマチの治療:薬が効かなくなったとき	Medical Practice	21	1753	2004
田中良哉、塚田順一	接着分子と転移	血液・腫瘍科	49	S241-S247	2004
田中良哉、岡田洋右	ランゲルハンス細胞組織球症	Molecular medicine	41	1382-1386	2004
辻村静代、齋藤和義、河野公俊、田中良哉	SLEにおける多剤抵抗性遺伝子発現とその制御	臨床免疫	42	442-447	2004
中山田真吾、田中良哉	滑膜増殖におけるRhoシグナルの関与とその人為的制御	臨床免疫	42	547-552	2004
岡崎亮、田中良哉、田中郁子、竹内靖博	ステロイド骨粗鬆症の現状と対策	medicina	41	2081-2093	2004
福島あゆみ、岡田洋右、谷川隆久、森田恵美子、田中良哉	Propylthiouracilによる薬剤性血小板減少と特発性血小板減少性紫斑病が合併したバセドウ病の1例	内科	93	189-192	2004
辻村静代、齋藤和義、徳永美貴子、中塚敬輔、中山田真吾、中野和久、澤向範文、名和田雅夫、田中良哉	慢性C型肝炎に伴うクリオグロブリン血症にて増悪した関節症状にIFN- α 療法が奏効したRAの1例.	日本臨床免疫学会雑誌	27	48-53	2004
神田加壽子、岡田洋右、中井美穂、森田恵美子、田中良哉	Crohn病再燃時に発症したバセドウ病の1例	内科	94	397-399	2004
三澤晴雄、岡田洋右、谷川隆久、福島あゆみ、廣瀬暁子、河原智恵、神田加壽子、森田恵美子、田中良哉	甲状腺機能正常化後も高インスリン血症の関与が疑われる周期性四肢麻痺を繰り返したバセドウ病の1例	糖尿病	47	133-136	2004
峯信一郎、田中良哉	発症から自然軽快までの経過が追えたCronkhite-Canada症候群の1例	産業医科大学雑誌	26	245-251	2004

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
福島あゆみ、岡田洋右、廣瀬暁子、河原智恵、三澤晴雄、中井美穂、谷川隆久、森田恵美子、神田加壽子、田中良哉	ガチフロキサシンにより血糖コントロールが増悪した2型糖尿病の1例	プラクティス	21	201-206	2004
河野一郎、塚田順一、戸田陽子、小川亮介、東丈裕、岩重淳司、太田貴徳、窪田歩、溝部貴光、森本浩章、町田真一郎、田中良哉	同種末梢血肝細胞移植後、インターフェロン α 併用ドナーリンパ球輸注にて寛解となった治療抵抗性び慢性大細胞型B細胞リンパ腫	臨床血液	45	155-160	2004
栗田智子、松浦祐介、田中真由美、倉橋敦也、柏村正道、中野和久、田中良哉	多発性血栓塞栓症から卵巣明細胞腺癌が発見された1症例	産科と婦人科	71	677-681	2004
藤本良士、岡田洋右、岸川博史、神田加壽子、森田恵美子、田中良哉	膵体尾部切除後に発症したインスリン抵抗性を主因とした糖尿病の一例	臨床と研究	81	1331-1333	2004
澤向範文、斎藤和義、中塚敬輔、藤井幸一、中山田真吾、藤井裕子、中野和久、徳永美貴子、辻村静代、名和田雅夫、吾妻妙子、田中良哉	著明な大動脈弁・僧帽弁破壊により急性心不全を呈した顕微鏡的多発血管炎の一例	九州リウマチ	24	93-98	2004
徳永美貴子、斎藤和義、中塚敬輔、中山田真吾、中野和久、辻村静代、大田俊行、田中良哉	ループス脊髄炎による排尿障害並びにループス精神病にIV-CYが有効であった一症例	日本臨床免疫学会雑誌	27	338-344	2004
河原哲也、岡田洋右、広瀬暁子、谷川隆久、神田加壽子、田中良哉	グリチルリチンによる偽性アルドステロン症にて心停止を来した一症例	臨床と研究	81	1825-1828	2004
岸川博文、岡田洋右、広瀬暁子、河原哲也、三澤晴雄、谷川隆久、神田加壽子、森田恵美子、田中良哉	Loxoprofen sodiumが誘引と思われるインスリン自己免疫症候群の1例	糖尿病	47	851-854	2004
田中良哉、中山田真吾	β 1インテグリンシグナル伝達とSLE	炎症と免疫	13	87-94	2005
田中良哉	ステロイドの効果と注意点	痛みと臨床	5	34-41	2005
Yamaoka, S., H. Umehara, et al.	Expression cloning of a human cDNA restoring sphingomyelin synthesis and cell growth in sphingomyelin synthase-defective lymphoid cells.	J. Biol. Chem	279	18688-18693	2004
Uchida, Y., H. Umehara, et al.	Ceramide reduction and transcriptional up-regulation of glucosylceramide synthase through DOX-activated Sp1 in drug-resistant HL-60/ADR cells.	Cancer Res.	64	6271-6279	2004
Umehara H, Bloom ET, et al.	Fractalkine and vascular biology: from basic research to clinical diseases.	Arterio. Thromb. Vasc. Biol.	24	34-40	2004
Watanabe, I, H. Umehara, et al.	Increase of the ceramide content in nuclei through caspase-3 dependent inhibition of sphingomyelin synthase in Fas-induced Jurkat T cell apoptosis.	Cancer Res.	64	1000-1007	2004
Kawabata, D, H. Umehara, et al.	Ameliorative effects of follistatin-related protein/TSC-36 on joint inflammation in a mouse model of arthritis	Arthritis Rheum	50	660-667	2004
Iwai, K., Umehara, et al.	Ceramide increases oxidative damage due to inhibition of catalase by caspase-3-dependent proteolysis in HL-60 cell apoptosis.	J. Biol. Chem.	279	9813-9822	2004
Yoneda, O, Umehara, et al.	Membrane bound form of fractalkine induces IFN- γ production by NK cells: A role for Th1 response.	Eur. J. Immunol.	33	53-58	2003
永谷勝也、駒形嘉紀	CD4+CD25+T細胞の腸管へのホーミング機序	臨床免疫	41	740-742	2004

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nagatani K, Sagawa K, Komagata Y, Yamamoto K.	Peyer's Patch dendritic cells capturing oral antigen interact with antigen-specific T cells and induce gut-homing CD4+CD25+ regulatory T cells in Peyer's Patches.	Ann. N.Y. Acad. Sci.	1029	366-370	2004
Sagawa K, Nagatani K, Komagata Y, Yamamoto K.	Angiotensin Receptor Blockers (ARBs) Suppress Antigen Specific T cell Responses and Ameliorate Collagen Induced Arthritis in Mice.	Arthritis Rheum		in press	
Chai, J-G., Sakaguchi, S.,	T regulatory cells, derived from naive CD4+CD25- T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance.	Transplantation		in press	
Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N	History of CD25+CD4+ regulatory T cells.	Progress in Inflammation Research		in press	
Nomura, T., and Sakaguchi, S	Regulatory T cells in tumor immunity.	Current Topics in Microbiology and Immunology.		in press	
Sakaguchi, S	Regulatory T cells in autoimmune diseases.	Int. Rev. Immunol.		in press	
Sakaguchi, S. and Sakaguchi, N	Regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune diseases.	Int. Rev. Immunol.		in press	
Fehervari, Z. and Sakaguchi, S	A common basis of self-tolerance and transplantation tolerance: a simple way of inducing transplantation tolerance with naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells.	Philosophical Transactions: Biological Sciences.		in press	
Sakaguchi, S	Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+regulatory T cells in immunologic tolerance to self and non-self.	Nature Immunol.		in press	
Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.	T lymphocytes: Regulatory.	Nature Encyclopedia of Life Sciences.		in press	
Matsubara, Sakaguchi, S.,	Phenotypic and functional relationship between adult T cell leukemia and regulatory T cells.	Leukemia		in press	
Setoguchi, R., Sakaguchi, S	A crucial role of IL-2 in the homeostatic maintenance of CD25+CD4+ regulatory T cells: induction of autoimmune disease by neutralization of IL-2.	J. Exp. Med.		in press	