

かし、 $\alpha$ -GalCer 刺激でなく PHA 刺激のみで維持したクローンは、すべて $\alpha$ -GalCer と OCH の両者に反応した。

3)  $\alpha$ -GalCer と OCH の両者に反応した 8 クローンについて、より詳細な解析を加えた。DN クローンにおいては、測定したすべてのサイトカイン (IFN- $\gamma$ 、IL-2、TNF- $\alpha$ 、IL-4、IL-5、IL-10) について、 $\alpha$ -GalCer による刺激が OCH 刺激よりも強いサイトカイン産生を誘導した。OCH/ $\alpha$ -GalCer 比 (OCH または $\alpha$ -GalCer によって誘導されるサイトカイン量の比) は、Th1、Th2 サイトカインいずれにおいても、おおむね 0.5 以下であり、OCH が  $\alpha$ -GalCer と質的に異なる Th2 免疫偏倚を誘導するという証拠は得られなかった。しかし、CD4<sup>+</sup>クローンについては、Th1 サイトカインにおける OCH/ $\alpha$ -GalCer 比が 0.5 未満であるのに対し、Th2 サイトカインにおけるそれは、1~3.5 の値を示した。この結果は、CD4<sup>+</sup>NKT 細胞においては、OCH に対する反応が $\alpha$ -GalCer に対するそれよりも、より Th2 に傾いていることを意味する。

#### D. 考察

ヒト NKT 細胞の中でも CD4<sup>+</sup>NKT 細胞は、Th2 サイトカインを十分量産生することから、免疫制御細胞として重要な役割を果たすことが推測されている。今回の我々の結果は、CD4<sup>+</sup>NKT 細胞が DN NKT 細胞と異なる反応性を示すことを確認するものであるとともに、OCH が $\alpha$ -GalCer よりも Th1 自己免疫疾患の治療において有効な治療薬となりうることを支持する。 $\alpha$ -GalCer で刺激された NKT 細胞が OCH に反応しない理由は不明であるが、おそらく強力な刺激が NKT 細胞の糖脂質反応性の閾値を変化させた結果ではないかと思われる。

#### E. 結論

ヒト CD4<sup>+</sup>NKT 細胞の反応性から見た場合に、OCH は $\alpha$ -GalCer よりも Th1/Th2 バランスを Th2 に偏倚させる能力において優れていることが明らかになった。マウスのみならずヒトにおいても、OCH が Th1 自己免疫疾患の治療薬として有効である可能性を示すものである。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(英文原著)

1. Oki, S., A. Chiba, T. Yamamura and S. Miyake: The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. *J. Clin. Invest.* 113: 1631-1640, 2004
2. Takahashi, K., T. Aranami, M. Endoh, S. Miyake, and T. Yamamura: The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis. *Brain* 127: 1917-1927, 2004
3. Nakai, Y., K. Iwabuchi, S. Fujii, N. Ishimori, N. Dashtsoodol, K. Watano, T. Mishima, C. Iwabuchi, S. Tanaka, J.S. Bezbradica, T. Nakayama, M. Taniguchi, S. Miyake, T. Yamamura, A. Kitabatake, S. Joyce, L. Van Kaer, and K. Onoe: Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice. *Blood* 104: 2051-2059, 2004
4. Mizuno, M., M. Masumura, C. Tomi, A. Chiba, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake: Synthetic glycolipid OCH prevents insulinitis and diabetes in NOD mice. *J. Autoimmun.* 23:293-300, 2004
5. Hashimoto, D., S. Asakura, S. Miyake, T. Yamamura, L. Van Kaer, C. Liu, M. Tanimoto, and T. Teshima: Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells. *J. Immunol.* 174: 551-556, 2005
6. Ueno, Y., S. Tanaka, M. Sumii, S. Miyake, S. Tazuma, M. Taniguchi, T. Yamamura and K. Chayama: Single dose of OCH improves mucosal T helper type 1/T helper type 2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of V $\alpha$ 14 natural killer T cells in mice. *Inflamm. Bowel Dis.* 11:35-41, 2005
7. Yu, K.O.A., J.S. Im, A. Molano, Y. Dutronc, P.A. Illarionov, C. Forestier, N. Fujiwara, I. Arias, S. Miyake, T. Yamamura, Y-T. Chang, G.S. Besra, and

- S.A. Porcelli: Modulation of CD1d-restricted NKT cell responses by using N-acyl variants of  $\alpha$ -galactosylceramides. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 3383-3388, 2005
8. Ota, T., K. Takeda, H. Akiba, Y. Hayakawa, K. Ogasawara, Y. Ikarashi, S. Miyake, H. Wakasugi, T. Yamamura, M. Kronenberg, D.H. Raulet, K. Kinoshita, H. Yagita, M.J. Smyth, and K. Okumura: IFN- $\gamma$ -mediated negative feedback regulation of NKT cell function by CD94/NKG2. *Blood* (in press)
9. Chiba, A., S. Kaieda, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake: The involvement of V $\alpha$ 14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis. *Arthr. Rheumat.* (in press)  
(和文原著)
1. 荒木 学、三宅幸子、山村 隆: 多発性硬化症における NKT 細胞減少は長期ステロイド治療により補正される。神経免疫学 12:175-179,2004  
(英文総説)
1. Yamamura, T., K. Miyamoto, Zs. Illes, E. Pal, M. Araki, and S. Miyake: NKT cell-stimulating synthetic glycolipids as potential therapeutics for autoimmune disease. *Curr. Top. Med. Chem.* 4: 561-567, 2004
2. Miyake, S., A. Chiba and T. Yamamura: Potential of targeting natural killer T cells for the treatment of autoimmune diseases. *Mod. Rheum.* 14: 279-284, 2004
3. Bedoui, S., S. Miyake, R. Straub, von Hörsten, and T. Yamamura: More sympathy for autoimmunity with neuropeptide Y (NPY)? *Trends. Immunol.* 25:508-512, 2004
4. Miyake, S. and T. Yamamura: Therapeutic potential of glycolipid ligands for natural killer (NK) T cells in the suppression of autoimmune diseases. *Curr. Drug Targets-Immune, Endocrine and Metabolic Disorders.* 2004 (in press)  
(和文総説)
1. 山村 隆: NKT 細胞のリガンドと Th1/Th2 バランス。臨床免疫 41: 14-17, 2004
2. 宮本 勝一, 山村 隆: 多発性硬化症の新しい治療薬の開発。Clinical Neuroscience 22: 847-850, 2004
3. 山村 隆、高橋 和也、荒木 学: 多発性硬化症と免疫調節細胞。日本臨床 2005 年増刊。臨床免疫学 (下) -基礎研究の進歩と最新の臨床- (印刷中)
4. 山村 隆: 多発性硬化症における免疫抑制薬の使い方: 神経免疫疾患。最新医学 (印刷中)  
(和文著書)
1. 佐藤 準一、山村 隆: サイトカインの生理活性-神経系。Overview. 別冊・医学のあゆみ。サイトカイン -state of arts. (編集 宮坂 信之、宮島 篤), 医歯薬出版 (東京), pp 119-122, 2004
2. 宮本 勝一、山村 隆: サイトカインの病態への関与。多発性硬化症。別冊・医学のあゆみ。サイトカイン -state of arts. (編集 宮坂 信之、宮島 篤), 医歯薬出版 (東京), pp 245-247, 2004
2. 学会発表  
(海外招待講演)
1. Yamamura T.: Altered glycolipid ligands for NKT cells. Symposium "Non classical MHC/CD1 recognition", The 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology and 4<sup>th</sup> Annual Conference of FOCIS, Montreal, Canada, July 22, 2004
2. Yamamura, T.: V $\alpha$ 7.2 invariant T cells in multiple sclerosis. The Third International Workshop on NKT cells & CD1-mediated antigen presentation. Heron Island, Australia. September 11, 2004
3. Yamamura, T.: Invariant T cells and multiple sclerosis/EAE. International Immunology Symposium Series 2004, Immune Regulation & Immunogenetics, Shanghai Second Medical University, Shanghai, Nov. 17, 2004
4. Yamamura, T.: A keynote lecture. The role of invariant NKT cells and NK cells in EAE and MS. MPI for Neurobiology. Neuroimmunology Workshop. Ringberg, Germany, January 19, 2005  
(海外一般発表)
1. Masumura, M., S. Miyake, K. Miyamoto, M. Mizuno, and T. Yamamura: A new synthetic glycolipid OCH suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by inducing Th2 bias of natural killer (NK) T cells. American Academy of Neurology meeting, San Francisco, April 27, 2004
2. Chen, J., B.P. Vistica, S. Miyake, T. Yamamura, C-C. Chan, and I. Gery: The synthetic glycolipid "OCH", a stimulant of NKT cells, inhibits Th1 cell-mediated ocular inflammation, but enhances disease induced by Th2 cells. 2004 ARVO (The Association for Research in Vision and

Ophthalmology) Annual Meeting, Fort Lauderdale, Florida, USA, April 25, 2004

3. Oki, S., A. Chiba, T. Yamamura, and S. Miyake: The molecular mechanisms of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells. 12<sup>th</sup> International Congress of Immunology and 4<sup>th</sup> Annual Conference of FOCIS. Montreal, Quebec, Canada, July 18-23, 2004

4. Hermann, T., O. Naidenko, S. Miyake, T. Yamamura, S. Cardell, M. Kronenberg, and E. Pyz: CD1d/NK1.1 interaction sites revealed by analysis of ligand recognition across a species barrier. The Third International Workshop on NKT cells & CD1-mediated antigen presentation. Heron Island, Australia. September 10, 2004

5. Oki, S., M. Mizuno, C. Tomi, T. Yamamura, and S. Miyake: Molecular basis of NKT cell aptitude as primary source of cytokine production for regulation of immune responses in vivo. The Third International Workshop on NKT cells & CD1-mediated antigen presentation. Heron Island, Australia. September 10, 2004

6. Chiba, A., S. Kaieda, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake: The critical role of NKT cells in the pathogenesis of collagen-induced arthritis and antibody-induced arthritis. ACR/ARHP Annual Scientific meeting. San Antonio, Texas, USA, October 18, 2004

(国内招待講演)

1. Yamamura, T.: Invariant T cells in multiple sclerosis. Recent progress in Neuroimmunology and NKT cell research. Special symposium supported by Japan MS Society. Tokyo, March 9, 2004

2. 山村 隆: シンポジウム「免疫制御機構と神経免疫疾患の発症をめぐって」神経免疫学の立場から。MSの発症機序。第17回日本神経免疫学会学術集会。福岡, 2005年3月4日

(国内一般学会)

1. 橋本 大悟、朝倉 昇司、三宅 幸子、山村 隆、Luc Van Kaer、Chen Liu、谷本 光音、豊嶋 崇徳: NKT細胞刺激による急性GVHD予防。第66回日本血液学会総会、京都、2004年9月17日

2. 中原とも子、阿部香織、千葉麻子、山村 隆、橋本博史、三宅幸子: 膠原病患者におけるCD1d拘束性NKT細胞の機能解析。第32回日本臨床免

疫学会総会。東京、2004年10月8日

3. 荒浪利昌、高橋和也、三宅幸子、山村 隆: 多発性硬化症寛解期におけるNK細胞のCD11c発現亢進。第32回日本臨床免疫学会総会。東京、2004年10月8日

4. Oki, S., A. Chiba, T. Yamamura and S. Miyake: Differential NKT cell responses against glycolipid ligands with a various lipid chain structure. 第77回日本生化学会、横浜、2004年10月14日

5. 荒浪 利昌、三宅 幸子、山村 隆: 多発性硬化症寛解期におけるNK細胞CD11c発現上昇。第34回日本免疫学会総会、札幌、2004年12月1日

6. 海江田 信二郎、千葉 麻子、Ludovic Croxford、大木 伸司、島村 道夫、山村 隆、三宅 幸子: マウス関節炎モデルにおけるV $\alpha$ 14 NKT細胞ならびにV $\alpha$ 19 NKT細胞の機能解析。第34回日本免疫学会総会、札幌、2004年12月2日

7. 塚本 和行、大辻 希樹、中村 和裕、三宅 幸子、山村 隆、広瀬 幸子: NKT細胞のSLE病態における役割。第34回日本免疫学会総会、札幌、2004年12月2日

8. 中原 とも子、阿部 香織、千葉 麻子、山村 隆、橋本 博史、三宅 幸子: 膠原病患者におけるCD1拘束性NKT細胞の糖脂質抗原に対する反応性の検討。第34回日本免疫学会総会、札幌、2004年12月3日

9. 大木 伸二、山村 隆、三宅 幸子: NKT細胞によるサイトカイン産生の分子基盤-T細胞との比較。第34回日本免疫学会総会、札幌、2004年12月3日

10. Croxford Ludovic、三宅 幸子、山村 隆: Over-expression of V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 33 invariant NKT cells regulate clinical disease in a model of multiple sclerosis. 第34回日本免疫学会総会、札幌、2004年12月3日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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 膠原病・リウマチ内科学

**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、CD8 T 細胞は CD4 T 細胞と比べて増殖性に富み、抗原特異的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 CD8 T 細胞と考えられる細胞のクローン性増多を認めた。かかる CD8 T 細胞を標的とした治療法を開発するため、これまでに、CD8 T 細胞に特徴的な細胞増殖性を *in vitro* にて再現しえたので、今年度は、そのメカニズムの解析を試みた。【方法】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 CD8 T 細胞の増殖性を観察し、両者におけるタンパク発現、タンパク質リン酸化および活性の差を、ウェスタンブロット法、フローサイトメトリ法等を用いて検討した。また、CD45 活性阻害剤である diphosphostatin が CD4 および CD8 T 細胞の増殖性におよぼす影響について検討した。さらに CD4 および CD8 T 細胞における CD45 アイソフォーム発現の経時的変化および CD45 結合タンパク質発現量の検討を行なった。【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 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、CD8 T 細胞において CD4 T 細胞よりも強く認められた。一方、CD8 T 細胞由来の CD45 活性は CD4 T 細胞由来のものより弱く、CD45 活性阻害剤処理により、CD4 T 細胞と CD8 T 細胞の増殖性の差は減少した。また、CD8 T 細胞上に発現する CD45 アイソフォームは抗 CD3 抗体および IL-2 刺激によって動的に変化し、IL-2 添加 5 日後において発現している CD45 アイソフォームを検討した結果、CD4 T 細胞上には CD45RO が優勢であったのに対し、CD8 T 細胞では CD45BC が優勢であった。また、IL-2 添加 5 日後において、CD45 結合タンパク質発現量に差異は認められなかった。【考察】これまでに、抗 CD3 抗体と IL-2 にて刺激することにより *in vitro* 試験系でも CD4 と CD8 T 細胞の増殖特性を再現できることを明らかとした。この際、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 CD8 T 細胞において認められたことから、CD8 T 細胞は CD4 T 細胞よりも IL-2 刺激に対する感受性が強いことが示唆された。また、JAK ホスファターゼである CD45 の活性は CD8 T 細胞において弱く、CD45 活性阻害剤処理により CD4 T 細胞と CD8 T 細胞の増殖性の差が減少したことから、両細胞間に認められた CD45 活性の差が CD4 T 細胞と CD8 T 細胞の増殖性差の一因であると考えられた。さらに、本試験において認められる CD45 活性の差は、両細胞に発現する CD45 アイソフォーム種類の差に由来する可能性が示唆された。【結論】CD4 T 細胞に比較した CD8 T 細胞の強い細胞増殖性は、CD45 活性の相違に起因する JAK1 および JAK3 の強く持続的な活性化が一因であると考えられた。現在、CD45 活性が CD45 アイソフォーム種類により異なる可能性について検討中である。

**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。そこで、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明を試みることで病態形成性 CD8T 細胞の増殖を阻止する方法を探り、新規治療法開発の可能性を検討した。

**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

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、両細胞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、両細胞における CD45 活性の差を検討するとともに、両細胞に発現している CD45 アイソフォームの種類および CD45 結合タンパク質 (CD45-associated protein : CD45-AP) 発現量を検討した。さらに、CD45 阻害剤が両細胞の増殖に与える影響について検討した。

#### (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て実験を実施した。また、動物実験に関しては、東京医科歯科大学動物実験の基本指針に従い、動物福祉の観点からも適切な処置を行なった。

### C. 研究結果

健常成人末梢血または 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。

両細胞における 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、両細胞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 細胞よりも高く、CD45 活性阻害剤である dephostatin 処理により、両細胞間に認められた IL-2 誘発の細胞増殖性の差は減少した。また、両細胞に発現している CD45 分子のアイソフォームを検討したところ、CD4T 細胞では CD45RO 分子が優勢に発現しているのに対し、CD8T 細胞では CD45RBC 分子が優勢に発現していた。一方、両細胞の CD45-AP 発現量に差異は認められなかった。

### 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。また、JAK フォスファターゼとして IL-2 シグナル伝達を調節する CD45 の活性の差が両細胞間において認められ、さらに、CD45 活性阻害剤処理により、両細胞間に認められた IL-2 誘発の細胞増殖性の差は減少したことから、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。また、本試験系における CD4T 細胞と CD8T 細胞の増殖性の差の一因であると考えられる CD45 の活性差の原因について追求したところ、既報されている CD45-AP 分子の関与は少ないものと考えられ、両細胞に発現する CD45 分子のアイソフォームの

差が原因であ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られる。

#### F. 健康危機情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nishio J, Suzuki M, Nanki T, Miyasaka N and Kohsaka H. Development of TCRB CDR3 length repertoire of human lymphocytes. Int Immunol 16(3), 423-431, 2004.

2. Liu T, Kohsaka H, Suzuki M, Takagi R, hashimoto K, Uemura Y, Ohyama H, and Matsushita S. Positional effect of amino acid replacement on peptide antigens for the increased IFN-g production from CD4 T cells. Allergol Int (in press)

##### 2. 学会発表

1. 關 巖、宮坂信之、上阪 等：末梢 CD8 T 細胞の増殖性を制御する因子。第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会、岡山、2004 年 4 月

2. 關 巖、宮坂信之、上阪 等：末梢 CD8 T 細胞の増殖性を制御する因子。第 25 回日本炎症・再生医学会、東京、2004 年 7 月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

特になし

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし

## 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** IL-2 が内在性制御性 T 細胞の発生、末梢での維持に必須のサイトカインであり、高親和性 IL-2 レセプターの構成分子としての CD25 (IL-2 R  $\alpha$ 鎖)は、制御性 T 細胞の単なるマーカーではなく、機能的に必須分子である。血中 IL-2 を一定期間中和するだけで、制御性 T 細胞は著明に減少し、自己免疫病が発症するに至る。この結果は、IL-2/CD25 分子の操作により内在制御性 T 細胞を量的に制御できる可能性を意味する。

### 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+CD4+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) 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

(1) CD25 (IL-2 receptor  $\alpha$ -chain) は制御性 T 細胞に発現する分子であるが、これが制御性 T 細胞の機能に必須であるのか、制御性 T 細胞が恒常的に活性化しているため発現しているのか明らかではない。IL-2 および IL-2R の制御性 T 細胞における役割を検討するため、IL-2 中和抗体投与が、CD25+CD4+制御性 T 細胞の動態におよぼす影響を解析した。1 mg の精製中和抗体の一回投与で CD25+CD4+ T 細胞は、胸腺、末梢で約 1/5 に減少し、減少状態は 2 ヶ月間持続した。CD25-CD4+T 細胞の減少は見られなかった。正常 BALB/c マウ

スに生後 10 日、20 日に IL-2 中和抗体を投与すると全例臓器特異的自己免疫病を発症した。さらに I 型糖尿病を自然発症する NOD マウスに抗 IL-2 抗体を投与すると糖尿病の発症は促進され、他臓器にも自己免疫病が高頻度で発症した。IL-2 の生理的状态での産生源を検討した結果、最も高い IL-2 産生を示すのは、CD25-low CD4+T 細胞であった。この中には自己反応性 T 細胞が含まれる。(2) ヒト末梢血中の制御性 T 細胞を、細胞表面マーカーおよび FOXP3 の発現程度によって解析した。また、CD4 リンパ球に Foxp3 遺伝子導入を試み、内在性制御性 T 細胞と機能的に類似した制御性 T 細胞の作成が可能であることを示した。

### D. 考察 E. 結論

IL-2 は、制御性 T 細胞の胸腺での産生、末梢での生存・増殖に必須のサイトカインである。その量的、質的異常は自己免疫病の原因となる。また、IL-2 の量的操作により制御性 T 細胞の操作が可能であり、免疫疾患の治療に有用である。

### F. 健康危機情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Sakaguchi, S.: Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. Nature Immunol. In

- press.
2. Chai, J-G., Xue, S., Coe, D., Addey, C., Bartok, I., Scott, D., Simpson, E., Stauss, H. J., Hori, S., Sakaguchi, S., and Dyson, J. P.: T regulatory cells, derived from naïve CD4+CD25- T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance. *Transplantation*. In press.
  3. Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N.: History of CD25+CD4+ regulatory T cells. *Progress in Inflammation Research*. In press.
  4. Nomura, T., and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in tumor immunity. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. In press.
  5. Sakaguchi, S.: Preface: Regulatory T cells in autoimmune diseases. *Int. Rev. Immunol.* In press.
  6. Sakaguchi, S. and Sakaguchi, N.: Regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune diseases. *Int. Rev. Immunol.* In press.
  7. 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.
  8. Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.: T lymphocytes: Regulatory. *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. In press.
  9. Matsubara, Y., Hori, T., Morita, R., Sakaguchi, S., and Uchiyama, T.: Phenotypic and functional relationship between adult T cell leukemia and regulatory T cells. *Leukemia* In press.
  10. Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and 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.
  11. Yoshitomi, H., Sakaguchi, N., Brown, G., Tagami, T., Sakihama, T., Nomura, T., Akira, S., Gordon, S., Nakamura, T., and Sakaguchi, S. Environmental stimulation of innate immunity triggers chronic arthritis in mice genetically prone to produce arthritogenic autoimmune T cells: a key role of fungal  $\beta$ -glucans and their receptor Dectin-1. *J. Exp. Med.* In press.
  12. Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells. In "Measuring Immunity" eds. M. T. Lotze and A. W. Thompson, Elsevier. p322-335, 2005.
  13. Gondek, D. C., Lu, L-F., Quezada, S. A., Sakaguchi, S., and Noelle, R. J. Cutting Edge: Contact-mediated suppression by CD4+CD25+ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J. Immunol.* 174: 1783-1786, 2005.
  14. Turk MJ, Guevara-Patino JA, Rizzuto GA, Engelhorn ME, Sakaguchi, S., and Houghton AN.: Concomitant tumor immunity to a poorly immunogenic melanoma is prevented by regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 200:771-82, 2004.
  15. Sakaguchi, N., Takahashi, T., Hata, H., Nomura, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Sakihama, T., Negishi, I., Nakatsuru, S., and 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. p239-242, 2004.
  16. Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and 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. p341-344, 2004.
  17. Ono, M., Shimizu, J., Miyachi, Y., and 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. p193-195, 2004.
  18. Muriglan, S. J., Ramirez-Montagut, T., Alpdogan, O., Van Huystee, T. W., Eng, J. M., Hubbard, V. M., Kochman, A. A., Tjoe, K. H., Riccardi, C., Pandolfi, P. P., Sakaguchi, S., Houghton, A. N., and Van Den Brink, M. R.: GITR activation induces an opposite effect on alloreactive CD4+ and CD8+ T cells in graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.* 200:149-157, 2004.
  19. Ying Li, Y., Koshiba, T., Yoshizawa, A.,



- Yonekawa, Y., Ito, A., Mori, T., Kawamoto, H., Tanaka, Y., Sakaguchi, S., Minato, N., Wood, K. J., and Tanaka, K: Analyses of peripheral blood mononuclear cells in operational tolerance after pediatric living donor liver transplantation. *American J. Transplantation*. 4:2118-2125, 2004.
20. Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: CD4+ regulatory T cells and immune control. *J. Clin. Invest.* 114:1209-117, 2004.
21. He, H., Messer, R.J., Sakaguchi, S., Yang, G., Robertson, S. J., and Hasenkrug, K. J. Reduction of retrovirus-induced immunosuppression by in vivo modulation of T cells during acute infection. *J. Virology*. 78:11641-7, 2004.
22. Takahata, Y., Nomura, A., Takada, H., Ohga, S., Furuno, K., Hikino, S., Nakayama, H., Sakaguchi, S., Hara, T.: CD25+CD4+ T cells in human cord blood: an immunoregulatory subset with naive phenotype and specific expression of forkhead box p3 (Foxp3) gene. *Exp Hematol*. 32:622-629, 2004.
23. Yagi, H., Nomura, T., Nakamura, K., Kitawaki, T., Hori, S., Maeda, M., Onodera, M., Uchiyama, T., Fujii, S., and Sakaguchi, S.: Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD25+CD4+ regulatory T cells. *Int. Immunol.* 16: 1643-1656, 2004.
24. Kanamaru, F., Youngnak, P., Hashiguchi, M., Nishioka, T., Takahashi, T., Sakaguchi, S., Ishikawa, I., and Azuma, M. Costimulation via glucocorticoid-induced TNF receptor in both conventional and CD25+ regulatory CD4+ T cells. *J. Immunol.* 172: 7306-7314, 2004.
25. Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Control of CD25+CD4+ regulatory T cell activation and function by dendritic cells. *Int. Immunol.* 16:1769-1780, 2004.
26. Hata, H., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Iwakura, Y., Sekikawa, K., Rennick, D., Azuma, Y., Kanai, C., Moriizumi, E., Nakamura, T., and Sakaguchi, S. Distinct contribution of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. *J. Clin. Invest.* 114: 582-588, 2004.
27. Nishimura, E., Sakihama, T., Setoguchi, R., Tanaka, K., and Sakaguchi, S.: Induction of antigen-specific immunologic tolerance by in vivo and in vitro antigen-specific expansion of naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells. *Int. Immunol.* 16: 1189-1201, 2004.
28. Dittmer, U., He, H., Messer, R. J., Schimmer, S., Olbrich, A. R., Ohlen, C., Greenberg, P. D., Stromnes, I. M., Iwashiro, M., Sakaguchi, S., Evans, L. H., Peterson, K. E., Yang, G., Hasenkrug, K. J.: Functional impairment of CD8+ T cells by regulatory T cells during persistent retroviral infection. *Immunity*. 20: 1-20, 2004.
29. 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.
30. 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.: NF-kB-inducing kinase establishes self-tolerance in a thymic-stroma dependent manner. *J. Immunol.* 172: 2067-2075, 2004.
31. Hori, S., and Sakaguchi, S.: Foxp3, a critical regulator of regulatory T cell development and function. *Microbes and Infection*. 6: 745-51, 2004.
32. Choi, B. K., Bae, J. S., Choi, E. M., Kang, W. J., Sakaguchi, S., Vinay, D. S., and Kwon, B. S. 4-1BB-dependent inhibition of immunosuppression by activated CD4+CD25+ T cells. *J. Leukoc. Biol.* 75: 785-791, 2004.
33. Sakaguchi, S.: Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Ann. Rev. Immunol.* 22:531-562, 2004.
34. 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.
35. Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Development

- and function of CD25+CD4+ regulatory T cells. *Curr. Opin. Immunol.* 16:203-208, 2004.
36. 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.
2. 学会発表
1. Haruhiko Yagi, Takashi Nomura, Kyoko Nakamura, Toshio Kitawaki, Masafumi Onodera, Takashi Uchiyama, Shingo Fujii, and Shimon Sakaguchi: Crucial role of FOXP3 in the development of human CD25+4+ regulatory T cells. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
2. Zoltan Fehervari and Shimon Sakaguchi: Dendritic cells and the control CD25+4+ T cells. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
3. Shohei Hori, Takashi Nomura, and Shimon Sakaguchi:The transcription factor Foxp3 controls the development and function of naturally occurring CD4+ regulatory T cells. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
4. Masahiro Ono, Jun Shimizu, Yoshiki Miyachi, and Shimon Sakaguchi : Elimination of Foxp3+ T cells by depleting GITRhigh T cells induces multiple severe organ-specific autoimmune diseases including fatal myocarditis. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
5. Ruka Setoguchi and Shimon Sakaguchi: Neutralization of IL-2 breaks immunological self-tolerance by reducing the number of CD25+4+ regulatory T cells. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
6. Keiji Hirota, Kwibeom Ko, Sayuri Yamazaki, Jun Shimizu, Kyoko Nakamura, Tomoyuki Yamaguchi, Takashi Nomura, and Shimon Sakaguchi: Tumor Immunotherapy with anti GITR monoclonal antibody in mice. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
7. BR Blazar, A Panoskaltsis-Mortari, JS Serody, CJ Lees, MJ Ehrhardt, JM Swedin, WJ Murphy, RJ Noelle, BL Levine, CH June, S. Sakaguchi, PA Taylor : The Role of CD25+4+ regulatory (Treg) cells in allogeneic bone marrow transplantation. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
8. Sergio A. Ouezada, Kathy A. Bennett, Shimon Sakaguchi and Randolph J. Noelle : Visualizing in vivo regulatory T cell control induced by CD154 blockade and alloantigen during graft tolerance. *Keystone Symposia Regulatory/Suppressor T Cells (2004. 3.10-15. Banff Canada)*.
9. 瀬戸口留可、掘昌平、高橋武司、坂口志文 : IL-2 の機能阻害による免疫自己寛容の破綻 第 14 回 Kyoto T Cell Conference (2004. 6. 4-5 京都).
10. 小野昌弘、清水淳、山口智之、ゾルタン=フェヘバリ、宮地良樹、坂口志文 : GITR-HIGH T 細胞の除去は Foxp3+T 細胞を駆逐し致死的自己免疫性心筋炎および多臓器の自己免疫病・湿疹様病変を誘導する 第 14 回 Kyoto T Cell Conference (2004. 6. 4-5 京都).
11. ゾルタン=フェヘヴァリ、坂口志文 : Dendritic cells and the control CD25+CD4+ T cells 第 14 回 Kyoto T Cell Conference (2004. 6. 4-5 京都).
12. M Ono, J Shimizu, Y Miyachi, and S Sakaguchi : Elimination of Foxp3+ T Cells by Depleting GITR-high T Cells Induces Multiple Severe Organ-Specific Autoimmune Diseases Including Fatal Myocarditis.12th International Congress of Immunology(2004. 7.18-23.Montreal Canada).
13. R Setoguchi , S Hori, T Takahashi, S Sakaguchi: Neutralization of IL-2 Breaks Immunological Self-Tolerance by Reducing CD25+4+ Regulatory T Cells. 12th International Congress of Immunology (2004. 7.18-23.Montreal Canada).
14. 瀬戸口留可、掘昌平、高橋武司、坂口志文 : CD25highCD4+制御制 T 細胞の生体内維持に必須である IL-2 の供給源 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).

15. 小野昌弘、清水淳、山口智之、ゾルタン=フェヘバリ、宮地良樹、坂口志文：Foxp3 発現 T 細胞の除去による広範な自己免疫病の誘導 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
16. 山口智之、高橋武司、坂口志文：制御制 T 細胞と活性化 T 細胞を区別する抗体の作製とその腫瘍免疫への応用 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
17. 中村恭子、廣田圭司、ゾルタン=フェヘバリ、山口智之、野村尚志、坂口志文：CD25+ CD4+制御制 T 細胞における FoxP3, CTLA-4 の役割 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
18. 西岡朋尚、廣田圭司、清水淳、坂口志文：CD25+ CD4+制御制 T 細胞に対する GITRL の役割と腫瘍免疫誘導 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
19. 八木治彦、野村尚志、藤井信吾、坂口志文：抗ヒト GITR モノクローナル抗体による CD25+ CD4+制御制 T 細胞の in Vitro 増殖抑制能の解除 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
20. Fehervari Zoltan, Takahashi Takeshi, Hirota Keiji, Sakaguchi Shimon: Generation of a novel antibody with a unique distribution pattern and capable of effectively perturbing both regulatory cell mediated suppression and boosting T cell responses 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
21. 廣田圭司、吉富啓之、野村尚志、坂口教子、坂口志文：ZAP-70 突然変異の結果自己免疫性関節炎を自然発症する SKG マウスの末梢 CD4+T 細胞動態 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
22. 杉本直志、Fehervari Zoltan、小野昌弘、内山卓、坂口志文：TGFβによるナイーブ CD4+T 細胞の Foxp3 遺伝子発現誘導の定量的解析 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
23. 田中聡、吉富啓介、廣田圭司、野村尚志、坂口教子、坂口志文：SKG マウスの ZAP-70 遺伝子突然変異による胸腺 T 細胞選択の偏倚と、その結果誘導される自己免疫疾患スペクトラムの変化 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
24. 吉富啓介、田中聡、野村尚志、坂口教子、中村孝志、坂口志文：真菌β-glucan による SKG マウス自己免疫性関節炎の惹起 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
25. 松本満、黒田範行、石丸直澄、新垣理恵子、林良夫、野村尚志、坂口志文、上野智雄、高浜洋介、松島明美：遺伝性自己免疫疾患の原因遺伝子 AIRE(Autoimmune regulator) の機能解析 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
26. 岩井秀之、矢野倫子、橋口昌章、宮坂信之、坂口志文、東みゆき：CD25— CD4+T 細胞および CD25+ Treg に対する供刺激と CD25— CD4+T 細胞から供刺激によって誘導される IL-10 産生細胞による制御 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).
27. Li Ying, Koshiba Takaaki, Yosizawa Atushi, Ito Atushi, Egawa Hiroto, Sakaguchi Shimon, Minato Nagahiro, Wood Kathryn, Tanaka Kouichi: Analysis of peripheral blood mononuclear cells in operational tolerance after living-donor liver transplantation. 第 34 回日本免疫学会学術集会 (2004. 12. 1-3 札幌).

#### H. 知的財産権の出願・取得状況

1. 特許取得
  - ・Foxp3 発現リンパ球による免疫病の治療法 (特許出願中)
  - ・新規単クローン性抗体による制御性 T 細胞の操作 (特許出願中)
2. 実用新案登録
  - 特になし
3. その他
  - 特になし

## 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。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、5 症例にいずれに於いても寛解導入が出来、1 年以上の長期維持が可能であった。何れの症例でも、CD20 抗体により末梢血 B 細胞数のみならず、CD19 陽性細胞上の CD40 と CD80 の発現が減弱し、B 細胞数や IgG 値が回復した後にも、ds-DNA 抗体消失と尿蛋白陰性が長期的に継続した。一方、その後、2 例が再燃した。20 ヶ月後に再燃した 1 例は、リツキシマブを再投与するも無効で、投与後、血清 HACA 74µg/ml と高値、血清リツキシマブは検出感度以下で HACA 産生による効果喪失と考えられた。17 ヶ月後に再燃した 1 例は、リツキシマブ再投与にステロイド大量静注を併用し、HACA の検出なく奏効し、再寛解導入が可能であった。また、再燃時には、CD40 と CD80 の発現が臨床症候に一致して増減した。

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス（SLE）に代表される膠原病の発症過程では、免疫寛容の破綻に伴う自己反応性 T 細胞の活性化が関与し、B 細胞活性化と B 細胞から過剰に産生された自己抗体による免疫複合体形成を介して多臓器障害が齎される。SLE の治療に関する明確な指標はないが、疾患活動性が高く、重症な臓器病変を伴う際には、ステロイド薬と免疫抑制薬の併用が推奨される。しかし、多くは副作用の多い非特異的免疫療法で、既存の治療では病態改善が困難な難治例は稀ではない。また、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。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、B 細胞の特異的な表面抗原である CD20 を標的とした抗体療法は格好な治療法となり得る。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

研究では治療に抵抗性の重症 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。患者の個人情報や所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. 研究結果

治療抵抗性 SLE 患者 5 名にリツキシマブを投与開始後 28 日目、4 症例で SLE 疾患活動性指数 SLEDAI が改善し、何れも治療後 1~5 ヶ月以内に寛解導入に成功し、副作用は 1 例で帯状疱疹を併発以外には認めなかった。また、CNS ループス、ループス腎炎、溶血性貧血、心筋症の何れの病態にも有効であった。

その後、5 例ともステロイド減量の上、1 年以上寛解を維持したが、2 例が再燃した。20 ヶ月後に再燃した 1 例は、リツキシマブを再投与するも無効で、投与後、血清 HACA 74 $\mu$ g/ml と高値、血清リツキシマブは検出感度以下で HACA 産生による効果喪失と考えられた。17 ヶ月後に再燃した 1 例は、リツキシマブ再投与にステロイド大量静注を併用し、HACA の検出なく奏効し、再寛解導入し得た。

何れの症例でも、CD20 抗体により末梢血 B 細胞数のみならず、CD19 陽性細胞上の CD40 と CD80 の発現が減弱し、B 細胞数や IgG 値が回復した後にも、ds-DNA 抗体消失と尿蛋白陰性が長期的に継続した。また、再燃時には、CD40 と CD80 の発現が臨床症候に一致して増減した。

### D. 考察

治療抵抗性の SLE に対して、リツキシマブを用いたパイロットスタディに於いて、CD20 抗体療法は、重篤な副作用を認めずに、中枢神経系、腎、造血系の何れにも奏効し、5 症例全てに於いて 1 年以上の長期的寛解状態をも得た。CD20 抗体は、B 細胞の量的減衰に加えて、B 細胞の CD40 と CD80 の発現制御を介した質的減衰によって B 細胞-T 細胞間相互作用を制御し、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。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、多施設間での臨床試験を開始した。

### 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

## 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 68<sup>th</sup> National Meeting of American college of Rheumatology, San Antonio. 平成 16 年 10 月

2. 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

3. 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

4. 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

5. 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

6. 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 回日本アレルギー学会 (特別講演) 浦安. 平成 16 年 11 月

7. 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

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Fujio K, Okamoto A, Tahara H, Abe M, Jiang Y, Kitamura T, Hirose S, Yamamoto K.	Nucleosome-specific regulatory T cells engineered by triple gene transfer suppress a systemic autoimmune disease.	J Immunol.	173:2118-2125, 2004.
Yamada R, Tokuhiro S, Chang X, Yamamoto K.	SLC22A4 and RUNX1: identification of RA susceptible genes.	J Mol Med.	82:558-564, 2004.
Kochi Y, Yamada R, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki A, Sekine A, Mabuchi A, Akiyama F, Tsunoda T, Nakamura Y, Yamamoto K.	Analysis of single-nucleotide polymorphisms in Japanese rheumatoid arthritis patients shows additional susceptibility markers besides the classic shared epitope susceptibility sequences.	Arthritis Rheum.	50:63-71, 2004.
Setoguchi K, Misaki Y, Kawahata K, Shimada K, Juji T, Tanaka S, Oda H, Shukunami C, Nishizaki Y, Hiraki Y, Yamamoto K.	Suppression of T cell responses by chondromodulin I, a cartilage-derived angiogenesis inhibitory factor.	Arthritis Rheum.	50:828-839, 2004.
Zhang D, Fujio K, Jiang Y, Zhao J, Tada N, Sudo K, Tsurui H, Nakamura K, Yamamoto K, Nishimura H, Shirai T, Hirose S.	Dissection of the role of MHC class II A and E genes in autoimmune susceptibility in murine lupus models with intragenic recombination.	PNAS.	101:13838-13843, 2004.
Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Hashimoto J, Azuma J, Kishimoto T.	Treatment of rheumatoid arthritis with humanized anti-interleukin 6 receptor antibody.	Arthritis Rheum.	50:1761-1769, 2004.
Kobari Y, Misaki Y, Setoguchi K, Zhao W, Komagata Y, Kawahata K, Iwakura Y, Yamamoto K.	T cells accumulating in the inflamed joints of a spontaneous murine model of rheumatoid arthritis become restricted to common clonotypes during disease progression.	Int Immunol.	16:131-138, 2004.
Iikura M, Ebisawa M, Yamaguchi M, Tachimoto H, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K.	Transendothelial migration of human basophils.	J Immunol.	173:5189-5195, 2004.
Li, N., Nakamura, K., Jiang, Y., Tsurui, H., Matsuoka, S., Abe, M., Ohtsuji, M., Nishimura, H., Kato, K., Kawai, T., Atsumi, T., Koike, T., Shirai, T., Ueno, H., Hirose, S.	Gain-of-function polymorphism in mouse and human Ltk: implications for the pathogenesis of lupus erythematosus.	Hum Mol Genet.	13:2171-179.2004.
Shimizu, C., Koike, T., Sawamura, Y.	Double pituitary adenomas with distinct histological features and immunophenotypes.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	75.140.2004.
Endo, T., Nakao, S., Koizumi, K., Nishio, M., Fujimoto, K., Sakai, T., Kuwano, K., Obara, M., Koike, T.	Successful treatment with rituximab for autoimmune hemolytic anemia concomitant with proliferation of Epstein-Barr virus and monoclonal gammopathy in a post-non myeloblastic stem cell transplant patient.	Ann Hematol.	83.114-116.2004
Koizumi, K., Fujimoto, K., Haseyama, Y., Endo, T., Nishio, M., Yokota, K., Itoh, K., Sawada, K., Koike, T.	Effective high-dose chemotherapy combined with CD34+-selected peripheral blood stem cell transplantation in a patient with cutaneous involvement of nasal NK/T-cell lymphoma.	Eur J Haematol.	72.140-144. 2004.
Nagai, S., Shimizu, C., Umetsu, M., Taniguchi, S., Endo, M., Miyoshi, H., Yoshioka, N., Kubo, M., Koike, T.	Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor responsive element within the murine perilipin gene.	Endocrinology.	145. 2346-2356.2004.
Yasuda, S., Atsumi, T., Ieko, M., Matsuura, E., Kobayashi, K., Inagaki, J., Kato, H., Tanaka, H., Yamakado, M., Akino, M., Saitou, H., Amasaki, Y., Jodo, S., Amengual, O., Koike, T.	Nicked $\beta_2$ -glycoprotein I: a marker of cerebral infarct and a novel role in the negative feedback pathway of extrinsic fibrinolysis.	Blood.	103:10. 3766-3772.2004.
Kubo, M., Shimizu, C., Kijima, H., Nagai, S., Koike, T.	Alternate promoter and 5'-Untranslated exon usage of the mouse adrenocorticotropin receptor gene in adipose tissue.	Endocrin J.	51.25-30. 2004.



発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Yamamoto,S., Tsuji,T., Matsuzaki,J., Zhange,Y., Chamoto,K., Kosaka,A., Togashi,Y., Sekikawa,K., Sawada,K., Takeshima,T., Koike,T., Nishimura,T.	Unexpected role of TNF- $\alpha$ in graft versus host reaction (GVHR): donor-derived TNF- $\alpha$ suppresses GVHR via inhibition of IFN- $\gamma$ -dependent donor type-1 immunity.	Int Immunol.	16: 811-817. 2004.
Endo,T., Mogi,Y., Koizumi,K., Nishio,M., Fujimoto,K., Sakai,T., Kumano,K., Obara,M., Ikeda,H., Koike,T.	Peripheral blood stem cell mobilization following plus rituximab therapy combined with G-CSF in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma.	Bone Marrow Transpl.	33:703-707. 2004.
Hashimoto,S.,Kawata,T.,Schnermann,J.,Koike,T.	Chloride Channel Blockade Attenuates the Effect of Angiotensin II on Tubuloglomerular Feedback in WKY but not Spontaneously Hypertensive Rats.	Kidney Blood Press R.	27:35-42.2004.
Yasuda,S.,Ogura,N.,Horita,T.,Yasuda,I.,Hioka,T.,Kondo,N.,Fujisaku,A.	Abacterial prostatitis and primary biliary cirrhosis with Sjogren's syndrome.	Mod Rheumatol.	14:70-72.2004.
Das,H.,Atsumi,T.,Fukushima,Y.,Shibuya,H.,Ito,K.,Yamada,Y.,Amasaki,Y.,Ichikawa,K.,Amengual,O.,Koike,T.	Diagnostic value of antiagalactosyl IgG antibodies in rheumatoid arthritis.	Clin Rheumatol.	23:218-222.2004.
Ieko,M.,Tarumi,T.,Takeda,M.,Nito,S.,Nakabayashi,T.,Koike,T.	Synthetic selective inhibitors of coagulation factor Xa strongly inhibit thrombin generation without affecting initial thrombin forming time necessary for platelet activation in hemostasis.	J Thromb Haemost.	2: 612-622.2004.
Amengual,O.,Atsumi,T.,Koike,T.	Antiprothrombin antibodies and the diagnosis of antiphospholipid syndrome.	Clin Immunol.	112: 144-149.2004.
Suzuki,F.,Shimizu,C.,Umetsu,M.,Nagai,S.,Takeuchi,J.,Endo,M.,Miyoshi,H.,Yoshioka,N.,Mitsumasa,K.,Koike,T.	Adult-onset idiopathic hypogonadotropic hypogonadism due to isolated pituitary gonadotropin deficiency.	Internal med.	43:7. 571-574.2004.
Endo,T.,Koizumi,K.,Nishio,M.,Fujimoto,K.,Sakai,T.,Kumano,K.,Obara,M.,Minauchi,K.,Koike,T.	Localized relapse in bone marrow of extremities after allogeneic stem cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia.	Am J Hematol.	76: 279-282.2004.
Yang,L.,Hakoda.M.,Iwabuchi.K.,Takeda.T.,Koike.T.,Kamatani.N.,Takada.K.	Rheumatoid Factors Induce Signaling from B cells, leading to Epstein-barr virus and B-cell activation.	J Virol.	78:18. 9918-9923.2004.
Kataoka,H.,Koike,T.	Lupus mortality in Japan.	Autoimmun Rev.	3: 421-422.2004.
Endo,T.,Sato,N.,Koizumi,K.,Nishio,M.,Fujimoto,K.,Yamamoto,S.,Sakai,T.,Bohgaki,T.,Sawada,K.,Koike,T.	A preliminary analysis of the balance between Th1 and Th2 cells after CD34+ cell-selected autologous PBSC transplantation.	Cytotherapy.	6:4.337-343.2004.
Xiao,S.,Deshmukh,S.U.,Jodo,S.,Koike,T.,Sharma,R.,Furusaki,A.,Sung,J.S.,Ju,Shyr-Tu.	Novel negative regulator of expression in Fas Ligand(CD178)Cytoplasmic tail:Evidence for Translational Regulation and against Fas Ligand Retention in secretory lysosomes.	J Immunol.	173: 5095-5102.2004.
Yasuda,S.,Atsumi,T.,Ieko,M.,Koike,T.	$\beta$ 2-glycoprotein I,anti- $\beta$ 2-glycoprotein I, and fibrinolysis.	Thromb Res.	114: 461-465.2004.
Atsumi,T.,Amengual,O.,Yasuda,S.,Koike,T.	Antiprothrombin antibodies-are they worth assaying?	Thromb Res.	114: 533-538.2004.
Hashimoto,S.,Ogawa,Y.,Ishida,T.,Mochizuki,T.,Koike,T.,Sato,H.,Ueda,T.	Steroid-sensitive nephrotic syndrome associated with positive C1q immunofluorescence.	Clin Exp Nephrol.	8: 266-269.2004.
Bohgaki,M.,Atsumi,T.,Yamashita,Y.,Yasuda,S.,Sakai,Y.,Furusaki,A.,Bohgaki,T.,Amengual,O.,Amasaki,Y.,Koike,T.	The p38 mitogen-activated protein kinase(MAPK)pathway mediates induction of the tissue factor gene in monocytes stimulated with human monoclonal anti- $\beta$ 2Glycoprotein I antibodies.	Int Immunol.	16:11. 1633-1641.2004.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Yasuda S, Atsumi T, Matsuura E, Kaihara K, Yamamoto D, Ichikawa K, Koike T.	Significance of valine/leucine <sup>247</sup> polymorphism of $\beta$ 2-glycoprotein I in antiphospholipid syndrome: increased reactivity of anti- $\beta$ 2-glycoprotein I autoantibodies to the valine <sup>247</sup> $\beta$ 2-glycoprotein I variant.	Arthritis Rheum.	52:1212-218.2004.
Sugiura-ogasawara.M.,Atsumi,T.,Ozaki,Y.,Koike,T.,Suzumori,K.	Phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibodies are not useful markers for high-risk woman with recurrent miscarriages.	Fertil Steril.	82:51440-1442.2004.
Takahashi, R., Tsutsumi, A., Ohtani, K., Muraki, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Wakamiya, N., and Sumida, T.	Association of mannose-binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progression of systemic lupus erythematosus.	Ann. Rheu. Dis.	64:311-314, 2005.
Takahashi, R., Tsutsumi, A., Ohtani, K., Goto, D., Matsumoto, I., Ito, S., Wakamiya, N., and Sumida, T.	Anti-mannose binding lectin antibodies in sera of Japanese patients with systemic lupus erythematosus.	Clin. Exp. Immunol.	136: 585-590, 2004.
Kato, T., Asahara, H., Kurokawa, MS, Fujisawa, K., Hasunuma, T., Inoue, H., Tsuda, M., Takahashi, S., Motokawa, S., Sumida, T., and Nishioka, K.	HTLV-I env protein acts as a major antigen in patients with HTLV-I-associated arthropathy.	Clin. Rheumatil.	23:400-409, 2004.
Muraki, Y., Matsumoto, I., Chino, Y., Hayashi, T., Suzuki, E., Goto, D., Ito, S., Murata, H., Tsutsumi, A., and Sumida, T.	GPI variants play a key role in the generation of anti-GPI Abs: possible mechanism of autoantibody production.	BBRC.	60:1316-1324, 2004.
Tsutsumi, A., Adachi, Y., Murata, H., Kojo, S., Shibuya, K., Nakamura, H., and Sumida, T.	G0S24, a gene that regulates TNFa production, is highly expressed in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis.	J. Rheumatol.	31:1044-1049, 2004.
Muraki, Y., Tsutsumi, A., Takahashi, R., Suzuki, E., Hayashi, T., Chino, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Murata, H., and Sumida, T.	Polymorphisms of IL-1b gene in Japanese patients with Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus.	J. Rheumatol.	31:720-725, 2004.
Tsutsumi, A., Takahashi, R., and Sumida, T.	Mannose binding lectin: genetics and autoimmune disease.	Autoimmunity Reviews.	in press.
Ohnishi, Y., Tsutsumi, A., Goto, D., Itoh, S., Matsumoto, I., Taniguchi, M., and Sumida, T.	TCRV $\alpha$ 14+ NKT cells function as effector T cells in collagen-induced arthritis mice.	Clin. Exp. Immunol.	in press.
Tomoo, T., Tsutsumi, A., Yasukochi, T., Ikeda, K., Ochiai, N., Ozawa, K., Shibana, Y., Ito, S., Matsumoto, I., Goto, D., and Sumida, T.	Analysis of abnormally expressed genes in synovium from patients with rheumatoid arthritis using a column gel electrophoresis-coupled subtractive hybridization technique.	Int. J. Mol. Med.	in press.
Naito, Y., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Goto, D., Tsutsumi, A., and Sumida, T.	Muscarinic acetylcholine receptor autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome.	Ann. Rheu. Dis.	in press.
Hashimoto, D., S. Asakura, S. Miyake, T. Yamamura, L. Van Kaer, C. Liu, M. Tanimoto, and T. Teshima.	Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells.	J. Immunol.	174: 551-556, 2005.
Ueno, Y., S. Tanaka, M. Sumii, S. Miyake, S. Tazuma, M. Taniguchi, T. Yamamura and K. Chayama.	Single dose of OCH improves mucosal T helper type 1/T helper type 2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of V $\alpha$ 14 natural killer T cells in mice.	Inflamm. Bowel Dis.	11:35-41, 2005.
Yu, K.O.A., J.S. Im, A. Molano, Y. Dutronc, P.A. Illarionov, C. Forestier, N. Fujiwara, I. Arias, S. Miyake, T. Yamamura, Y-T. Chang, G.S. Besra, and S.A. Porcelli.	Modulation of CD1d-restrocted NKT cell responses by using N-acyl variants of $\alpha$ -galactosylceramides.	Proc Natl Acad Sci U S A.	102: 3383-3388, 2005.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Oki, S., A. Chiba, T. Yamamura and S. Miyake.	The clinical implication and molecular mechanism of preferential IL-4 production by modified glycolipid-stimulated NKT cells.	J. Clin. Invest.	113: 1631-1640, 2004.
Takahashi, K., T. Aranami, M. Endoh, S. Miyake, and T. Yamamura.	The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis.	Brain.	127: 1917-1927, 2004.
Nakai, Y., K. Iwabuchi, S. Fujii, N. Ishimori, N. Dashtsoodol, K. Watano, T. Mishima, C. Iwabuchi, S. Tanaka, J.S. Bezbradica, T. Nakayama, M. Taniguchi, S. Miyake, T. Yamamura, A. Kitabatake, S. Joyce, L. Van Kaer, and K. Onoe.	Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice.	Blood.	104: 2051-2059, 2004.
Mizuno, M., M. Masumura, C. Tomi, A. Chiba, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake.	Synthetic glycolipid OCH prevents insulinitis and diabetes in NOD mice.	J. Autoimmun.	23:293-300, 2004.
荒木 学, 三宅幸子, 山村 隆.	多発性硬化症におけるNKT細胞減少は長期ステロイド治療により補正される	神経免疫学.	12:175-179,2004.
宮本 勝一, 山村 隆.	多発性硬化症の新しい治療薬の開発.	Clinical Neuroscience.	22: 847-850, 2004.
Ota, T., K. Takeda, H. Akiba, Y. Hayakawa, K. Ogasawara, Y. Ikarashi, S. Miyake, H. Wakasugi, T. Yamamura, M. Kronenberg, D.H. Raulet, K. Kinoshita, H. Yagita, M.J. Smyth, and K. Okumura.	IFN- $\gamma$ -mediated negative feedback regulation of NKT cell function by CD94/NKG2.	Blood.	in press.
Chiba, A., S. Kaieda, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake.	The involvement of V $\alpha$ 14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis.	Arthr. Rheumat.	in press.
山村 隆, 高橋 和也, 荒木 学.	多発性硬化症と免疫調節細胞. 日本臨床 2005年増刊. 臨床免疫学(下).	基礎研究の進歩と最新の臨床.	印刷中.
山村 隆.	多発性硬化症における免疫抑制薬の使い方: 神経免疫疾患.	最新医学.	印刷中.
Nishio J, Suzuki M, Nanki T, Miyasaka N and Kohsaka H.	Development of TCRB CDR3 length repertoire of human lymphocytes.	Int Immunol.	16(3), 423-431, 2004.
Liu T, Kohsaka H, Suzuki M, Takagi R, hashimoto K, Uemura Y, Ohyama H, and Matsushita S.	Positional effect of amino acid replacement on peptide antigens for the increased IFN-g production from CD4 T cells.	Allergol Int.	in press.
Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.	Regulatory T cells. In "Measuring Immunity" eds. M. T. Lotze and A. W.	Thompson, Elsevier.	p322-335, 2005.
Gondek, D. C., Lu, L-F., Quezada, S. A., Sakaguchi, S., and Noelle, R. J.	Cutting Edge: Contact-mediated suppression by CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism.	J. Immunol.	174: 1783-1786, 2005.
Turk MJ, Guevara-Patino JA, Rizzuto GA, Engelhorn ME, Sakaguchi, S., and Houghton AN.	Concomitant tumor immunity to a poorly immunogenic melanoma is prevented by regulatory T cells.	J. Exp. Med.	200:771-82, 2004.
Sakaguchi, N., Takahashi, T., Hata, H., Nomura, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Sakihama, T., Negishi, I., Nakatsuru, S., and 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. p239-242, 2004.
Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S.	A crucial role of IL-2 in the homeostatic maintenance of CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells.	Immunology 2004.	Medimond S.r.l., Bologna, Italy. p341-344, 2004.
Ono, M., Shimizu, J., Miyachi, Y., and 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. p193-195, 2004.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・頁・出版名
Muriglian, S. J., Ramirez-Montagut, T., Alpdogan, O., Van Huystee, T. W., Eng, J. M., Hubbard, V. M., Kochman, A. A., Tjoe, K. H., Riccardi, C., Pandolfi, P. P., <u>Sakaguchi, S.</u> , Houghton, A. N., and Van Den Brink, M. R.	GITR Activation induces an opposite effect on alloreactive CD4 <sup>+</sup> and CD8 <sup>+</sup> T cells in graft-versus-host disease.	J. Exp. Med.	200:149-157, 2004.
Ying Li, Y., Koshiba, T., Yoshizawa, A., Yonekawa, Y., Ito, A., Mori, T., Kawamoto, H., Tanaka, Y., <u>Sakaguchi, S.</u> , Minato, N., Wood, K. J., and Tanaka, K.	Analyses of peripheral blood mononuclear cells in operational tolerance after pediatric living donor liver transplantation.	American J. Transplantation.	4:2118-2125, 2004.
Fehervari, Z., and <u>Sakaguchi, S.</u>	CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells and immune control.	J. Clin. Invest.	114:1209-117, 2004.
He, H., Messer, R.J., <u>Sakaguchi, S.</u> , Yang, G., Robertson, S. J., and Hasenkrug, K. J.	Reduction of retrovirus-induced immunosuppression by <i>in vivo</i> modulation of T cells during acute infection.	J. Virology.	78:11641-7, 2004.
Takahata, Y., Nomura, A., Takada, H., Ohga, S., Furuno, K., Hikino, S., Nakayama, H., <u>Sakaguchi, S.</u> , Hara, T.	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> T cells in human cord blood: an immunoregulatory subset with naive phenotype and specific expression of forkhead box p3 (Foxp3) gene.	Exp Hematol.	32:622-629, 2004.
Yagi, H., Nomura, T., Nakamura, K., Kitawaki, T., Hori, S., Maeda, M., Onodera, M., Uchiyama, T., Fujii, S., and <u>Sakaguchi, S.</u>	Crucial role of <i>FOXP3</i> in the development and function of human CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells.	Int. Immunol.	16: 1643-1656, 2004.
Kanamaru, F., Youngnak, P., Hashiguchi, M., Nishioka, T., Takahashi, T., <u>Sakaguchi, S.</u> , Ishikawa, I., and Azuma, M.	Costimulation via glucocorticoid-induced TNF receptor in both conventional and CD25 <sup>+</sup> regulatory CD4 <sup>+</sup> T cells.	J. Immunol.	172: 7306-7314, 2004.
Fehervari, Z., and <u>Sakaguchi, S.</u>	Control of CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cell activation and function by dendritic cells.	Int. Immunol.	16:1769-1780, 2004.
Hata, H., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Iwakura, Y., Sekikawa, K., Rennick, D., Azuma, Y., Kanai, C., Moriizumi, E., Nakamura, T., and <u>Sakaguchi, S.</u>	Distinct contribution of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice.	J. Clin. Invest.	114: 582-588, 2004.
Nishimura, E., Sakihama, T., Setoguchi, R., Tanaka, K., and <u>Sakaguchi, S.</u>	Induction of antigen-specific immunologic tolerance by <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> antigen-specific expansion of naturally arising CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells.	Int. Immunol.	16: 1189-1201, 2004.
Dittmer, U., He, H., Messer, R. J., Schimmer, S., Olbrich, A. R., Ohlen, C., Greenberg, P. D., Stromnes, I. M., Iwashiro, M., <u>Sakaguchi, S.</u> , Evans, L. H., Peterson, K. E., Yang, G., Hasenkrug, K. J.	Functional impairment of CD8 <sup>+</sup> T cells by regulatory T cells during persistent retroviral infection.	Immunity.	20: 1-20, 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.
Kajiura, 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.	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.	6: 745-51, 2004.
Choi, B. K., Bae, J. S., Choi, E. M., Kang, W. J., <u>Sakaguchi, S.</u> , Vinay, D. S., and Kwon, B. S.	4-1BB-dependent inhibition of immunosuppression by activated CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> T cells.	J. Leukoc. Biol.	75: 785-791, 2004.
<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.	22:531-562, 2004.