

研究成果の刊行に関する一覧表 (雑誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ito, M., Nagata, N., Yumoto, F., Yamagoe, S., Suzuki, K., Adachi, K. and Tanokura, M.	^1H , ^{13}C , ^{15}N resonance assignments of the cytokine LECT2.	Journal of Biomolecular NMR	29	543-544	2004.
Ovejero, C. Cavad, Perianin, T. Hakvoort, J. Vermeulen, B. Godard, M. Fabre, P. Chafey, K. Suzuki, B. Romagnolo, S. Yamagoe, C. Perret..	Identification of the leukocyte cell-derived chemotaxin2 (LECT2) as a direct target gene of s-catenin in the liver	Hepatology	40	167-176	2004
T. Saito, A. Okumura, H. Watanabe, M. Asano, Ishida-Okawara, J. Sakagami, K. Sudo, Y. Hatano-Yokoe, T. Abo, Y. Iwakura, K. Suzuki, and S. Yamagoe.	Increase of Hepatic NKT Cells in LECT2-Deficient Mice Contributes to Severe Concanavalin A-Induced Hepatitis.	J Immunol	173	579-585	2004.
S. Suzuki, K. Honma, T. Matsuyama, K. Suzuki, K. Toriyama, K. Yamamoto, K. Miyazaki, M. Nakamura, K. Yu, A. Kumatori.	Critical roles of Interferon regulatory factor-4 in CD11b ^{high} CD8 ⁺ dendritic cell development	Proc Natl Acad Sci USA.	101	8981-8986	2004
Ishida-Okawara, T. Ito-Ihara, E. Muso, T. Ono, K. Saiga, K. Nemoto, K. Suzuki.	Neutrophil contribution to the crescentic glomerulonephritis in SCG/Kj mice.	Nephrol., Dial. Transplant	19	1708-1715	2004
Ohashi, Y.Y., Kameoka, Y., Persad, A.S., Kohi, F., Yamagoe, S., Hashimoto, K., and Suzuki, K.	Novel missense mutation found in Japanese patient with myeloperoxidase deficiency.	Gene	327	195-200	2004
Hoshino, A., Hanaki, K., Suzuki, K. and Yamamoto, K., 鈴木和男	Applications of T-lymphoma labeled with fluorescent quantum dots to cell tracing markers in mouse body バイオイメージングが切り開く新たな診断・治療評価技術	Biochem. Biophys. Res. Comm.	314	46-53	2004
鈴木和男	バイオイメージングが切り開く新たな診断・治療評価技術	医学のあゆみ	210	171	2004
長尾朋和、鈴木和男	血管炎初期反応のイメージング	医学のあゆみ	210	196-199	2004

研究成果の刊行に関する一覧表 (雑誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
長尾朋和、村山 研、越尾 修、大野尚仁、三浦典子、高橋 啓、馬淵綾子、南谷晴之、鈴木和男	腎臓血管傷害のイメージング	PharmaMedica	22	185-189	2004
Guo-Hua Yuan, Atsuyuki Shibakawa, Michiaki Tanaka, Kayo Masuko-Hongo, Tomohiro Kato, Kusuki Nishioka, Hiroshi Nakamura.	Characterization of Cells from Pannus-like Tissue over Articular Cartilage of Advanced Osteoarthritis.	Osteoarthritis Cartilage	Jan; 12(1)	38-45	2004
Yao Z, Kurokawa MS, Masuko-hongo K, Tsuruha J, Sakata M, Nakamura H, Nishioka K, Kato T.	Characterization of arthropathy in mice immunized with cartilage intermediate layer protein.	Ann Rheum Dis	Mar; 63(3)	252-258	2004
Takata S, Nakamura H, Umemoto S, Yamaguchi K, Sekine T, Kato T, Nishioka K, Matsuzaki M.	Identification of autoantibodies with the corresponding antigen for repetitive coxsackievirus infection-induced cardiomyopathy.	Circ J	Jul; 68(7)	677-682	2004
Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Ohmi S, Fukuda H, Nishioka K, Kato T.	Proteomic surveillance of autoimmunity in osteoarthritis: Identification of triose phosphate isomerase as an autoantigen in patients with osteoarthritis.	Arthritis & Rheum	50	1511-1521	2004
Nakamura M, Tsutsumi, Sekine T, Koizuka, Nishioka K, Kato T.	Identification of β -tubulin isoform as an autoantigen in allergic rhinitis.	Microbiol. Immunol.	48	427-434	2004
Kato T, Asahara H, Suzuki-Kurokawa M, Fujisawa K, Hasunuma T, Inoue H, Motokawa S, Sumida T, Nishioka K.	HTLV-I env protein acts as a major antigen in patients with HTLV-I associated arthropathy.	Clin Rheumatol	Oct; 23(5)	400-409	2004
Kato T, Xiang Y, Nakamura H, Nishioka K.	Neo-antigens in oateoarthritis.	Curr Opinion Rheumatol	16	604-608	2004
Nakamura H, Shibakawa A, Tanaka M, Kato T, Nishioka K.	Effects of glucosamine hydrochloride on the production of prostaglandin E2, nitric oxide and metalloproteases by chondrocytes and synoviocytes in osteoarthritis.	Clin Exp Rheumatol	22	293-299	2004
Shan ZZ, Masuko-Hongo K, Dai SM, Nakamura H, Kato T, Nishioka K.	A role of 15d-PGJ2 in chondrocyte apoptosis.	JBC	279	37939-37950	2004

研究成果の刊行に関する一覧表 (雑誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Karasawa R, Ozaki S, Nishioka K, Kato T.	Autoantibodies to Peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases.	Microbiol Immunol	49(1)	57-65	2005
Tazzari PL, Bonifazi F, Bandini G, Kato T, Conte R, Ferrara GB, Pistillo MP.	ATG/AMG immunosuppressive effect in mediated by anti-CTLA-4 antibodies.: In HLA2003 by International Hospcompatibility Working Group.		in press		
Tanaka M, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K, Nakamura H.	Suppressive effects of hyaluronan on MMP-1 and RANTES production from chondrocytes.	Rheumatol Int.	in press		
Hui D, Masuko-Hongo K, Xiang Y, Boa CD, Wang XD, Chen SL, Kato T, Nishioka K.	Prevalence of autoantibodies against cartilage intermediate layer protein, YKL39, osteopontin, and cyclic citrullinated peptide in patients with early-stage knee osteoarthritis: Evidence for a variety of autoimmune processes in OA patients.	Rheumatol Int.	in press		
Fukuda Y, Yotsuyanagi H, Sekine T, Suzuki M, Itoh F, Nishioka K, Kato T.	Identification of new autoantibody in patients with chronic hepatitis.	Human Immunol.	in press		
Masuko-Hongo K, Kato T.	Recent developments in treatment of osteoarthritis.	Current Drug Inflammation and Allergy	in press		
Matsuoka A, Kato T, Soma Y, Takahama H, Nakamura M, Matsuoka H, Mizoguchi M.	Analysis of T cell receptor (TCR) BV-gene clonotypes in NC/Nga mice developing dermatitis resembling human atopic dermatitis.	J. Dermatol. Sci.	in press		
Orita M, Masuko-Hongo K, Yotsuyanagi H, Matsui T, Suzuki-Kurokawa M, Nishioka K, Kato T.	Molecular Transplantation: Delivery of membranous proteins onto live cells.	Analytical Biochem	in press		
加藤智啓	質量分析による蛋白の同定	聖マリアンナ医科大学雑誌		63-68	2004
田中道明, 中村洋, 芝川温之, 増子佳世, 加藤智啓, 西岡久寿樹	OA患者におけるT細胞-軟骨細胞相互作用による軟骨破壊と高分子ヒアルロン酸によるその抑制	臨床リウマチ		271-275	2004
中村洋, 加藤智啓	OAの免疫学的側面	医学のあゆみ		277-279	2004

研究成果の刊行に関する一覧表 (雑誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hase H, Kanno Y, Kojima M, Hasegawa K, Sakurai D, Kojima H, <u>Tsuchiya N</u> , Tokunaga K, Masawa N, Azuma M, Okumura K, Kobata T	BAFF/BLyS can potentiate B-cell selection with the B-cell co-receptor complex.	Blood	103	2257-2265	2004
Sakurai D, <u>Tsuchiya N</u> , Yamaguchi A, Okaji Y, Tsuno NH, Kobata T, Takahashi K, Tokunaga K	Crucial role of inhibitor of DNA binding/differentiation in the vascular endothelial growth factor-induced activation and angiogenic processes of human endothelial cells.	J Immunol	173	5801-5809	2004
Hitomi Y, <u>Tsuchiya N</u> , Kawasaki A, Kyogoku C, Ohashi J, Suzuki T, Fukazawa T, Bejrachandra S, Siriboonrit U, Chandanyingyong D, Suthipinittharm P, Tsao BP, Hashimoto H, Honda Z, Tokunaga K	CD72 polymorphisms associated with alternative splicing modify susceptibility to human systemic lupus erythematosus through epistatic interaction with <i>FCGR2B</i> .	Hum Mol Genet	13	2907-2917	2004
<u>Tsuchiya N</u> , Kuroki K, Fujimoto M, Murakami Y, Tedder TF, Tokunaga K, Takehara K, Sato S	Association of functional <i>CD19</i> polymorphism with susceptibility to systemic sclerosis.	Arthritis Rheum	50	4002-4007	2004
Ehara Y, Sakurai D, <u>Tsuchiya N</u> , Nakano K, Tanaka Y, Yamaguchi A, Tokunaga K	Follistatin-related protein gene (<i>FRP</i>) 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
Okaji Y, Tsuno NH, Kitayama J, Saito S, Takahashi T, Kawai K, Yazawa K, Asakage M, Tsuchiya T, Sakurai D, <u>Tsuchiya N</u> , Tokunaga K, Takahashi K, Nagawa H	A novel method for isolation of endothelial cells and macrophages from murine tumors based on Ac-LDL uptake and CD16 expression.	J Immunological Methods	295	183-193	2004
<u>Tsuchiya N</u> , Kyogoku C	Role of Fcγ Receptor IIb polymorphism in the genetic background of systemic lupus erythematosus: Insights from Asia.	Autoimmunity	(in press)		

研究成果の刊行に関する一覧表 (雑誌)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
土屋尚之	関節リウマチの環境要因	医学のあゆみ	209	760-764	2004
土屋尚之、京極千恵子	SLE疾患感受性とFcγ受容体IIb多型の関連	臨床免疫	42	435-441	2004
土屋尚之	疾患感受性遺伝子検査の現状。(日本臨床増刊号「関節リウマチ」)	日本臨床	63 Suppl 1	111-116	2005
土屋尚之	候補遺伝子アプローチによる解析	ゲノム医学	(印刷中)		
甲栄吉、土屋尚之	BAFF(BLyS)とその受容体の生理的役割と病態との関連	臨床免疫	(印刷中)		

〔V〕

平成16年度第1回班会議
プログラム

厚生労働省「難治性血管炎に関する調査研究班」

平成16年度第1回班会議 プログラム

平成16年6月25日（金）於：都市センターホテル 6階 606号室

1. 10:00～10:20

厚生労働省より基調講演

厚生労働省健康局疾病対策課 菊岡 修一

2. 10:20～10:40

昨年度の目標達成度の分析と今年度の到達目標の提示

主任研究者 聖マリアンナ医科大学 リウマチ・膠原病・アレルギー内科
尾崎 承一

3. 10:40～12:00

各分科会における昨年度の目標達成度の分析と今年度の到達目標の提示

1) 中小型血管炎の臨床研究分科会

10:40～11:00

杏林大学医学部第1内科学教室
中林 公正

2) 大型血管炎の臨床研究分科会

11:00～11:20

北海道大学大学院医学研究科循環病態学講座循環器外科
安田 慶秀

3) 血管病理研究分科会

11:20～11:40

北海道大学名誉教授
吉木 敬

4) 基礎研究分科会

11:40～12:00

国立感染症研究所生体防御物質室
鈴木 和男

4. 12:00～12:10

事務連絡

12:10～13:00 昼食

5. 13:00～

各分科会小委員会（詳細は裏面をご覧ください。）

(ご参考) 各分科会小委員会議事

- 大型血管炎の臨床研究分科会 12:30~13:30
 - 1. 今年度事業について
 - a. バージャー病アンケート解析と今後の進め方
 - b. IAAA アンケート解析と今後の進め方
 - c. MGF 治験進行について
 - d. FDGSPECT の診断導入の検討

- 中小型血管炎の臨床研究分科会 13:00~14:00
 - 中・小血管炎 臨床分科会の本年度の研究方針に関する討論会

※血管病理研究分科会、基礎研究分科会は、本日は開催しない予定です。

〔VI〕

平成16年度第2回班会議
プログラム・抄録

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

難治性血管炎に関する調査研究

平成16年度 第2回班会議

プログラム 抄録集

日時：平成17年1月14日（金）10：00～16：00

場所：都市センターホテル6階601会議室

東京都千代田区平河町2丁目4番1号

TEL:03(3265)8211 / FAX:03(3263)3010

主任研究者 尾崎 承一

発表者へのお願い

発表時間は7分、質疑応答3分です。時間厳守でお願いいたします。

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

難治性血管炎に関する調査研究班

事務局 〒216-8511

川崎市宮前区菅生2-16-1

聖マリアンナ医科大学

リウマチ・膠原病・アレルギー内科内

TEL:044-977-8111(内線:4287)/FAX:044-977-8593

e-mail:office.mhlw.vasculitis-res@marianna-u.ac.jp

プログラム

1. 厚生労働省からの御挨拶 10:00~10:10

厚生労働省健康局疾病対策課

菊岡 修一

2. 研究班の活動概要 10:10~10:20

主任研究者 尾崎 承一

3. 研究報告

- I. 基礎研究分科会 10:20~11:00

座長：鈴木和男

- 1) 分科会報告「血管炎発症機構に關与する分子・遺伝子に關する基礎研究」

..... 10:20~10:30

国立感染症研究所生物活性物質部第三室

鈴木 和男

- 2) 「活性化好中球における CD69 の動態と血管内皮細胞傷害」

..... 10:30~10:40

国立感染症研究所生物活性物質部第三室

鈴木 和男

- 3) 「血管炎とペルオキシレドキシシン抗体」 10:40~10:50

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

加藤 智啓

- 4) 「顕微鏡的多発血管炎における HLA および KIR 遺伝子群の關連の解析」

..... 10:50~11:00

東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻人類遺伝学

土屋 尚之

II.大型血管炎の臨床研究分科会11:00~11:50

座長：安田慶秀、重松宏

- 5) 分科会報告「1.パーシヤ病の長期予後調査 2.炎症性腹部大動脈瘤の
遠隔成績 3.FDG-PETを用いた高安動脈炎の診断 4.パーシヤ病に
対する遺伝子治療」11:00~11:10

北海道大学大学院医学研究科循環病態学講座循環器外科

安田 慶秀

- 6) 「潰瘍を有する Buerger 病例の検討—全国アンケート調査結果から—

.....11:10~11:20

東京大学医学部附属病院手術部

重松 宏

- 7) 「重症難治性虚血肢・心に対する血管再生治療—自己骨髄幹細胞移植

及び DDS 化徐放性蛋白質による新治療戦略—」11:20~11:30

日本医科大学第一内科

高野 照夫

- 8) 「末梢性血管疾患に対する遺伝子治療臨床研究：中・長期安全性と効果

について」11:30~11:40

大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学

森下 竜一

- 9) 「高安動脈炎に対する外科治療成績」11:40~11:50

北海道大学大学院医学研究科循環病態学講座循環器外科

安田 慶秀

昼食 11:50~12:50

- Ⅲ. 中小型血管炎の臨床研究分科会 12 : 50~14 : 20
座長 : 中林公正、吉田雅治
- 10) 分科会報告「本邦に於ける MPO-ANCA 関連血管炎の標準的治療法の
確立をめざして」 12 : 50~13 : 00
杏林大学医学部第1内科学
中林 公正
- 11) 「MPO-ANCA 関連血管炎症例の臨床病型と生命予後、死因の臨床的解析」
..... 13 : 00~13 : 10
杏林大学医学部第1内科学
中林 公正
- 12) 「MPO-ANCA 関連血管炎における CD69⁺好中球の動態」 13 : 10~13 : 20
東京女子医科大学第4内科
湯村 和子
- 13) 「高安動脈炎における抗内皮細胞抗体の免疫細胞化学的検討」
..... 13 : 20~13 : 30
藤田保健衛生大学医学部リウマチ感染症内科
吉田 俊治
- 14) 「ANCA 関連血管炎及びアスペルギルス感染症の標的治療として ST 合剤
は有用である」 13 : 30~13 : 40
東京医科大学八王子医療センター腎臓内科
吉田 雅治
- 15) 「Myeloperoxidase (MPO) 反応性 T 細胞クローンの樹立およびフェノ
タイプ解析」 13 : 40~13 : 50
順天堂大学医学部膠原病内科・順天堂大学越谷病院内科
小林 茂人

- 16) 「全身性血管炎症候群治療前後におけるサイトメガロウイルス産生
タンパク US27, US28 の発現検討」 13 : 50~14 : 00
埼玉医科大学総合医療センター第二内科
津坂 憲政
- 17) 「薬剤によるマウス皮膚由来血管内皮細胞株 (F-2) の細胞死誘導に
ついての検討」 14 : 00~14 : 10
和歌山県立医科大学皮膚科学
古川 福実
- 18) 「MPO-ANCA 関連血管炎における間質性肺炎の臨床病理学的検討」
..... 14 : 10~14 : 20
聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科
山田 秀裕

休憩 15分

IV.血管病理研究分科会 14 : 35~15 : 25
座長 : 吉木敬、居石克夫

19)分科会報告「血管病理分科会報告」 14 : 35~14 : 45
株式会社ジェネティックラボ
吉木 敬

20) 「env-pX ラットへの血管細胞の免疫による血管炎発症の促進と血管炎
惹起性 T 細胞クローン樹立の検討」 14 : 45~14 : 55
株式会社ジェネティックラボ
吉木 敬

21) 「ストレプトゾトシン誘発糖尿病マウスにおける下肢虚血耐性低下と
血小板由来増殖因子 (PDGF-BB) 発現低下との関連性」

..... 14 : 55~15 : 05

九州大学大学院医学研究院病理病態学

居石 克夫

22) 「環境要因による膠原病病態誘導・促進効果の解析」15 : 05~15 : 15

愛媛大学医学部病因病態学講座

能勢 真人

23) 「パージャーマ病に対する血管再生治療と微小血管造影法による評価」

..... 15 : 15~15 : 25

岡山理科大学理学部臨床生命科学科

由谷 親夫

4. 事務連絡..... 15 : 25~15 : 35

5. 懇親会

基礎研究分科会報告

鈴木和男（分科会会長、国立感染症研究所・生物活性物質部）

土屋尚之（東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学）

加藤智啓（聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター）

高橋 啓（協力研究者、東邦大学医学部大橋病院病理）

基礎研究分科会では、分科会員 3 名と協力者 1 名によって行った。以下に具体的な成果を報告する。

1. 血管炎発症に関する要因の解析

鈴木和男（分科会会長、国立感染症研究所・生物活性物質部）

協力者：高橋 啓（東邦大学医学部大橋病院病理）

血管炎の発症の要因に、活性化した好中球の影響が考えられている。その一つの現象として、抗タイプ II コラーゲン抗体の静脈注射により誘導される関節炎が、CD69-KO マウスでは発症せず、滑膜に好中球が浸潤しないが、Wild-type マウス由来の好中球を静脈注射すると滑膜での炎症が発生することから、CD69 分子は好中球の炎症反応に関与している可能性が示唆されている。

また、関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)等の血管炎を認める疾患の患者の血中に抗 CD69 自己抗体が検出されており、特に RA 患者においては、滑膜中、末梢血中の好中球の CD69 分子が細胞膜上に表出していることが最近報告された⁽³⁾。これらの研究から、CD69⁺活性化好中球が血管炎発症との関連が示唆されている。本分子は、タイプ₁膜貫通型 C 型レクチン糖タンパク質であり、好中球をはじめ、活性化した T 細胞、B 細胞、NK 細胞、好酸球の細胞膜表面に移行・局在することが知られており、血小板表面には恒常的に存在している。

そこで、本研究では、好中球が活性化されることによって、細胞膜表面に移行・局在する CD69 分子に着目し、炎症性サイトカインや走化性因子などで刺激し、*in vitro* における好中球の CD69 分子の細胞膜への表出を、共焦点レーザー顕微鏡、薄層射光照明蛍光顕微鏡を用いてイメージング解析した。また、CD69-KO マウスでの血栓形成についても検討した。

In vitro において、ヒト末梢血好中球は、細胞内に有する CD69 分子を PMA 刺激により CD69 分子を表出することから、PMA を対照として、好中球走化性因子 fMet-Leu-Phe、炎症性サイトカイン TNF- α および IL-1 β で各々単独で刺激した。刺激した細胞を Flowcytometry および共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した結果、CD69 分子が細胞膜周囲に局在したことが認められた。さらに、薄層射光照明蛍光顕微鏡を用いてより高倍率で観察したところ、細胞膜上の CD69 分子の細胞膜局在に偏りが見られた。照明蛍光顕微鏡を用いてイメージング解析した。また、CD69-KO マウスでの血栓形成についても検討し、血管内への活性酸素誘導の血栓形成による血流遮断の有意な遅延が生じた。これらの結果は、好中球の CD69 分子が、炎症性サイトカイン、走化性因子

に反応した局在変化をおこし、好中球の炎症反応の過程に関与するとともに血栓形成にも関わっている可能性が示唆された。

また、血管炎発症初期のサイトカイン変動および網羅的遺伝子発現解析についても報告する

2. 顕微鏡的多発血管炎における HLA および KIR 遺伝子群の関連の解析

土屋尚之 (東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学)

日本人顕微鏡的多発血管炎(MPA)における HLA-DRB1*0901-DQB1*0303 ハプロタイプの関連を報告してきた。本年度は、HLA 領域における疾患感受性領域をさらに解析するために、HLA-B, C および DPB1 の検討を行うとともに、あわせて、HLA-class I をリガンドとし、NK 細胞や T 細胞に活性化あるいは抑制性シグナルを伝達する killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR)遺伝子群の関連を検討した。

HLA 領域では、DRB1*0901-DBB1*0303 ハプロタイプが HLA 領域における主要な疾患感受性因子であることが確認された。しかし、このハプロタイプと extended haplotype を形成する対立遺伝子のうちで、DPB1*0201, C*0303, B*15111 の増加傾向が観察され、うち、遺伝子頻度は低いものの、B*15111 の MPA における有意な上昇が観察された。また、DRB1*0901-DQB1*0303-DPB1*0201 ハプロタイプのオッズ比は、DRB1*0901, DQB1*0303 単独より高い傾向が認められた。以上の結果から、MPA 疾患感受性における HLA 領域遺伝子の寄与は主として DR-DQ 領域によって説明しうるものの、ほかの HLA 領域遺伝子座の寄与も存在する可能性が示唆された。

KIR 遺伝子群の検討では、活性化型である KIR2DS1 遺伝子を有する頻度が MPA において低い傾向が認められた。次に、HLA リガンドと KIR 遺伝子の組み合わせについて検討したところ、HLA-Bw4 エピトープとそれに対応する抑制型の KIR 3 DL1 が陽性かつ活性化型の KIR 3 DS1 が陰性の群が MPA に多い傾向が認められた。以上の結果は、HLA 分子からの抑制シグナルが KIR を介して伝達される一方で活性化シグナルが減弱することが、例えばウイルス感染に対する抵抗性の減弱を介して疾患感受性に関わる可能性を示唆し、今後、症例数を増やした検討が必要と考えられた。

統計学的有意差には到達しなかったものの、MPA では、抑制型受容体 KIR3DL1 とそのリガンド HLA-Bw4 エピトープを持ち、活性化型受容体 KIR3DS1 を持たない群が多い傾向が認められた ($P=0.059$, c^2 -test)。

3. 血管炎における抗内皮細胞抗体の対応抗原に関する検討

加藤智啓 (聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター)

3年間の計画:

血管炎における抗内皮細胞抗体(AECA)の病因論的役割を明らかにする目的で、その対応抗原同定を行い、個別抗原に対する自己抗体の臨床的意義を明らかにする。

2、3年間の成果：

_血管内皮細胞に特異性の高い自己抗原を、血管炎患者血清を用いた 2 次元電気泳動とウエスタンブロッティングの組み合わせで、網羅的に検出し、約 50 個の抗内皮細胞抗体対応抗原を検出した。

- そのうちのひとつペロキシレドキシニン 2 に対する自己抗体は各種自己免疫疾患において、血管炎の存在と相関して検出されることが明らかとなった。
- 抗ペロキシレドキシニン 2 抗体価は血管炎の治療により、速やかに低下し、疾患のモニタリングにも有効であると考えられた。
- 抗ペロキシレドキシニン 2 抗体の存在は TAT、D-ダイマー高値と相関があり、病因論的に血栓形成と関連すると考えられた。
- その他のペロキシレドキシニンであるペロキシレドキシニン 1 と 4 に対する自己抗体は存在するが、血管炎との有意な関連は認められなかった。

3、今後の目標：

_抗ペロキシレドキシニン 2 抗体の診断的価値を確立するために、簡便かつ正確な検出系を確立し、サンプル数を増やした大規模検定を試みる。

_抗ペロキシレドキシニン 2 抗体の病因論的意義を探るため、その内皮細胞に対する作用を検定する。

_既検出未同定の内皮細胞抗原の同定を進める。

血管炎発症機構に關与する CD69 分子の關与

○鈴木和男¹、高橋啓²、長尾朋和^{1*}、村山研^{1,3}、松村実美子^{1,4}、山岸舞⁵、大川原明子¹、馬淵綾子⁶、南谷晴之⁴、三浦典子⁷、大原関利章²、大野尚仁⁶、星野昭芳^{1,8}、村田薫⁹、長谷川明洋⁹、船津高志⁵、山本健二⁸、中山俊憲⁹、新井孝夫³

¹国立感染症研・生物活性物質、²東邦大・医・大橋病院・病理、³東京理科大・理工、⁴慶應大・院理工、⁵東京大院薬、⁶オタゴ大(ニュージーランド)、⁷東京薬大・薬、⁸国立医療センター研、⁹千葉大院医、*現コーネル大・医(ニューヨーク)

【目的】血管炎の発症の要因に、活性化した好中球の影響が考えられている。その一つの現象として、抗タイプ II コラーゲン抗体の静脈注射により誘導される関節炎が、CD69-KO マウスでは発症せず、滑膜に好中球が浸潤しないが、Wild-type マウス由来の好中球を静脈注射すると滑膜での炎症が発生することから、CD69 分子は好中球の炎症反応に關与している可能性が示唆されている⁽¹⁾。また、関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)等の血管炎を認める疾患の患者の血中に抗 CD69 自己抗体が検出されており⁽²⁾、特に RA 患者においては、滑膜中、末梢血中の好中球の CD69 分子が細胞膜上に表出していることが最近報告された⁽³⁾。これらの研究から、CD69⁺活性化好中球が血管炎発症との関連が示唆されている。本分子は、タイプ II 膜貫通型 C 型レクチン糖タンパク質であり、好中球をはじめ、活性化した T 細胞、B 細胞、NK 細胞、好酸球の細胞膜表面に移行・局在することが知られており、血小板表面には恒常的に存在している。

そこで、本研究では、好中球が活性化されることによって、細胞膜表面に移行・局在する CD69 分子に着目し、炎症性サイトカインや走化性因子などで刺激し、*in vitro* における好中球の CD69 分子の細胞膜への表出を、共焦点レーザー顕微鏡、薄層射光照明蛍光顕微鏡を用いてイメージング解析した。また、CD69-KO マウスでの血栓形成についても検討した。

【方法】ヒト末梢血から比重分離法によって好中球を分離し、スライドガラス上に直径 7 mm 孔ラバープレート張り付けた well に、好中球を 37°C、10min で粘着させた。その後、PMA(100ng/ml)、fMet-Leu-Phe(1 μM)を well に添加し、37°C、10min で加温した。刺激後直ちに 1%パラホルムアルデヒドで固定し、FITC 標識抗 CD69 抗体で染色して観察した。また、薄層射光照明蛍光顕微鏡での観察時は、刺激した細胞を固定せずに抗体を添加し、経時的に局在変化を観察した。

【結果と考察】*In vitro* において、ヒト末梢血好中球は、細胞内に有する CD69 分子を PMA 刺激により CD69 分子を表出することから、PMA を対照として、好中球走化性因子 fMet-Leu-Phe、炎症性サイトカイン TNF-α および IL-1β で各々単独で刺激した。刺激した細胞を Flowcytometry および共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した結果、CD69 分子が細胞膜周囲に局在したことが認められた。さらに、薄層射光照明蛍光顕微鏡を用いてより高倍率で観察したところ、細胞膜上の CD69 分子の細胞膜局在に偏りが見られた。照明蛍光顕微鏡を用いてイメージング解析した。また、CD69-KO マウスでの血栓形成についても検討し、血管内への活性酸素誘導の血栓形成による血流遮断の有意な遅延が生じた。

これらの結果は、好中球の CD69 分子が、炎症性サイトカイン、走化性因子に反応した局在変化をおこし、好中球の炎症反応の過程に關与するとともに血栓形成にも關与している可能性が示唆された。

(1) Murata et al. Int Immunol. 11:5:987-92, 2003

(2) X. Yu, T. Matsui, M. Otsuka, T. Sekin, K. Yamamoto, K. Nishioka, T. Kato. Anti-CD69 Autoantibodies Cross-React with Low Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 2 in Systemic Autoimmune Diseases. J. Immunol. 166: 1360-1369, 2001.

(3) Atzeni F et al. CD69 expression on neutrophils from patients with rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol. 22:331-334, 2004.