厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

18F-FDG PET を用いた高安動脈炎炎症評価に関する研究

分担研究者小林　靖　東京医科歯科大学内科系診療科助手

研究要旨
18F-FDG PET と造影 CT の合成画像により大血管の炎症を感度、特異度の高い画像として可視化する方法を開発した。この方法により高安動脈炎の早期診断、治療評価の判定がより確実に行えることが明らかになった。

A．研究目的

高安動脈炎の診断は現在診断基準に基づいて、１）全身の非特異的な炎症症状と２）血管病変の画像診断による同定により行われるが、はっきりした血管病変の出現以前に本症を早期に診断が難しく確定診断に長い時間がかかることが多い。さらに本症に特異的な診断法が現在まで確立されておらず、大動脈に病変が生じるため病理学的な診断も不可能である。そこで大動脈における炎症が直接同定することができれば高安動脈炎の診断がより確実にまた早期に診断に至ることが期待される。そこで本研究では腫瘍細胞や炎症細胞などの糖代謝が著しい細胞に集積する 18F-FDG を用い Positron Emission Tomography（PET)を用いて大型血管炎症を直接評価する方法を検討した

B．研究方法

高安動脈炎急性期患者、慢性期患者、ならびに健常対照群を用いて検討を行った。本症の診断は診断基準に基づいて行った。18F-FDG PET ならびに造影 CT を行い画像処理により FDG の取り込み部位の解剖学的同定を検討した。

また、取り込みの程度を全体のバックグラウンドと FDG 取り込みのピークの比（SUV）で数値化し、慢性期群ならびに正常群との比較を行った。

C．研究結果

18F-FDG PET による検討に結果、FDG の取り込みは慢性期群や正常対照群と比較して急性期患者に有意に観察されたことが明らかになった。急性期患者では SUV でおよそ 1.3 以上で、対照群との比較の結果、本診断法の感度は約９０．９％、特異度は８８．８％であった。

次に急性期患者血管壁炎症を 18F-FDG PET を用いて検討したところ、炎症の強い一部の患者では血管炎症を反映したと考えられる FDG 取り込み像を認めたが、PET のみでは FDG 蓄積の解剖学的局在を確認できないと考えた。そこで造影 CT との合成像を画像処理により作成したところ、FDG 取り込み部位を解剖学的に同定出来るのみならず、血管壁 FDG 蓄積の感度を飛躍的に向上させることが明らかになった。

その結果、上行大動脈、大動脈弓、下行大動脈、総頚動脈、椎骨動脈、さらには肺動脈の FDG 蓄積が同定できることが明らかになった。

また、FDG 取り込み像の観察から従来から言われていた炎症のスキップ像が示された。

次に治療に対する FDG 蓄積像の反応を検討した。炎症の指標として CRP や血沈が用いられてきたが、経験として大動脈炎活動性を必ずしも反映していないことが知られていた。本研究では治療経過を 18F-FDG PET で検討したが、CRP や血沈は早期に正常化するものの FDG 取り込みは引き続き認められ、炎症マーカーの挙動とことなることが明らかになった。また、最終的には FDG 蓄積が消失したが、これらの結果は血管壁に局在した FDG 蓄積像が血管の炎症を反映したものであることを強く示唆しているものと考えた。

D．考察

18F-FDG PET による高安動脈炎の早期診断、治療評価の判定、さらには再燃例の評価がより正確に行える可能性が示された。また肺動脈単独の高安動脈炎の診断にも有用であることが予想される。しかし動脈硬化など他の疾患でも FDG の取り込みが血管壁に認められることがあり、患者の他の臨床症状や経過を合わせての総合的な評価が必要と考えられる。

E．結論

18F-FDG PET による高安動脈炎の早期診断、治療評価の判定、さらには再燃例の評価がより正確に行える可能性が示された。

G．研究発表

1. 論文発表

Kobayashi Y., et al. Aortic wall inflammation due to Takayasu arteritis imaged with ^{18}F-FDG positron emission tomography co-registered with enhanced computed tomography. The Journal of Nuclear Medicine. in press

2. 学会発表

Kobayashi Y, et al Aortitis inflammation imaged with [Fluorine-18] labeled fluoro-deoxyglucose Positron Emission Tomography (18FDG-PET). American Heart Association Scientific Session 2002, Chicago, IL, USA、2002 年 11 月 18 日

Kobayashi Y, et al Aortitis inflammation imaged with [Fluorine-18] labeled fluoro-deoxyglucose Positron Emission Tomography (18 FDG-PET). 第 67 回日本循環器学会学術集会、福岡、2003 年 3 月 30 日

小林　靖ら FDG-PET を用いた大動脈炎直接評価と臨床応用　第 100 回日本内科学会、福岡、2003 年 4 月 3 日

H．知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

本邦における高安動脈炎臨床経過に関する研究

分担研究者小林　靖　東京医科歯科大学内科系診療科助手

研究要旨

平成１０年より開始した高安動脈炎患者全国調査は８９７名の患者を登録し、臨床症状や合併症、予後などを検討してきた。今回平成１５年３月に大型血管炎の臨床に関する小委員会の事業として実施した調査では高安動脈炎の予後ならびに外科手術状況について検討した。その結果、年間の死亡率はおよそ１％、死因の多くは心臓死によるものが多いことが明らかになった。また、１７．６％の症例が外科手術を受けており、そのうち大動脈弁不全に対する手術が最も多いことが明らかになった。

A．研究目的

平成１０年度に研究班に登録された高安動脈炎患者８９７名の治療動向、免疫抑制剤の使用、外科手術の動向、重症度の推移、心機能評価を検討した。

B．研究方法

平成１０年度（平成１１年３月）に登録された高安動脈炎患者の主治医あてに質問票を送り、回答を得た。

C．研究結果

１）今回の調査での回収率は５６．９％であった

２）４年間の死亡者は２０名で年間の死亡率はおよそ１％である。死亡原因は不整脈、突然死７名、心不全死６名、肝ガン２名、ほか脳出血、大動脈破裂、炎症性腸炎、腎不全、肺炎各１名といずれも高安動脈炎の合併症に関連した原因が多いことがわかった。

３）内科的治療を検討したところ、約２４．７％の患者はステロイドを使用する前に寛解に入っていたことがわかった。６６．５％の患者はプレドニゾロンなどのステロイド薬で炎症がコントロールされ、また６．３％の症例でステロイドと免疫抑制剤の併用が行われていた。免疫抑制剤を使用した目的を検討したところ、併用例の約７割の症例ではプレドニゾロンのみでは十分に炎症のコントロールがつかないため併用されていたことがわかった。

４）外科手術を受けたのは９０件（１７．６％）であった。内訳は頭頸部上肢乏血症状に対するバイパス術が最も多く、ついで大動脈弁置換術、大動脈瘤に対する人工血管置換術、腎動脈バイパス、同拡張術、冠動脈拡張術、同バイパス術、異型大動脈縮窄症に対する人工血管置換術が主なものであった。

5)高安動脈炎の重症度分類により検討するとI度が３６．０％、II度が４１．７％、III 度が３．９％、IV 度が１３．８％、V 度が４．６％であった。

6) 心機能を NYHA 分類で評価したところ、I 度が６２．６％、II 度が 33.6%、III 度が３．２％、IV 度が０．２％であった。

D．考察

本調査は平成１０年度に登録した高安動脈炎患者の臨床経過を経時的に追う大規模かつユニーク臨床病態調査と考えられる。

高安動脈炎は侵襲した血管により多彩な臨床症状を呈するが、今回の調査から改めて心合併症、とくに本症の３分の１に合併する大動脈弁閉鎖不全や大動脈の狭窄病変、腎動脈病変などによる心機能への負荷が本症の予後に依然として重大であることが本調査からも明らかである。

心合併症に対しては内科的外科的な治療が行われているが、本症は若い女性に好発するため発症後長い期間の治療が必要となり患者の負担もかなりのものである。

本邦では高安動脈炎の治療はステロイドを基本として炎症のコントロールがつかない場合に免疫抑制剤が併用される形で治療が組み立てられている。しかしながら免疫抑制剤の使用に関して十分にコンセンサスが得られた治療法が確立されておらず、今後の検討が必要と考えられる。

また、高安動脈炎の診断基準は非特異的な全身の炎症所見ならびに血管病変の画像診断での確認、さらに他の感染性血管炎の除外という手順を踏むため診断までに時間がかかり血管病変の進行が進んでしまうケースが多い。早期診断や治療指標の早急な開発が望まれる。

E．結論

平成１０年より開始した高安動脈炎患者全国調査は８９７名の患者を登録し、臨床症状や合併症、予後などを検討してきた。今回平成１５年３月に大型血管炎の臨床に関する小委員会の事業として実施した調査では高安動脈炎の予後ならびに外科手術状況について検討した。その結果、年間の死亡率はおよそ１％、死因の多くは心臓死によるものが多いことが明らかになった。また、１７．６％の症例が外科手術を受けており、そのうち大動脈弁不全に対する手術が最も多いことが明らかになった。今後心合併症に対する内科的外科的治療法の開発、さらには早期発見、適切な治療指標の開発が必要と考えられる。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
病理分科会報告書

分科会長　吉木　敬　　株式会社ジェネティックラボ　技術顧問
居石克夫　　九州大学大学院医学研究院病理病態学　教授
能勢眞人　　愛媛大学大学院医学系研究科病因・病態学ゲノム病理学　教授
由谷親夫　　岡山理科大学理学部臨床生命科学科　教授
研究協力者　西平　順、尾川直樹、西村訓弘（株式会社ジェネティックラボ）
石津明洋（北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野）

研究要旨
本分科会では、①血管炎症例の網羅的遺伝子発現解析、②血管炎アトラスの作製、③血管炎モデル動物の確立と解析をはじめとする各個別研究、を行った。①については、ANCA 関連血管炎において、治療応答性に関与する可能性がある 6 遺伝子を抽出した。②については平成 16 年度中に完成予定である。③については、膠原病組換え近交系マウスを用いた遺伝子リコンビネーションとフェノタイプの解析、HTLV-I 遺伝子導入ラットにおける壊死性血管炎発症機序の解析、マウス下肢虚血モデルにおける分子病態解析、バージャー病に対する新しい血管再生治療と微小血管造影法によるその評価が行われた。

A．研究目的
本分科会では、
①血管炎症例の網羅的遺伝子発現解析
②血管炎アトラスの作製
③血管炎モデル動物の確立と解析をはじめとする各個別研究
を行った。

①血管炎症例の網羅的遺伝子発現解析
B．研究方法
血管炎発症および治療応答性に関与する遺伝子を探索するため DNA アレイを用いた遺伝子発現解析を実施した。血管炎症例の治療前、治療後における末梢血サンプルを用いて、メンブレンタイプアレイならびに Genechip アレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析を行った。
（倫理面への配慮）
文部科学省・厚生労働省・経済産業省の掲げる遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき、各々の研究実施機関の倫理委員会の承認を受け、全例インフォームドコンセントを得たうえで検体を採取した。

C．研究結果
死亡群と軽快群を対比して解析可能であった ANCA 関連血管炎では、それぞれの群において治療前後の発現変化が逆の挙動を示す6遺伝子がピックアップされた。

D．考察
これらの遺伝子は血管炎の治療応答性に関与している可能性が示唆された。

E．結論
症例を蓄積しクラスター解析を導入することによって、血管炎発症および治療応答性などに関与する遺伝子が明らかになると予想される。

②血管炎アトラスの作製
原発性血管炎症候群 10 疾患、血管炎類縁

疾患 8 疾患、続発性血管炎症候群 8 疾患について、臨床項目、病理項目に分けて分担執筆した。病理項目の執筆については、班員のみならず血管病理研究会に所属する専門家にも執筆を依頼した。

③血管炎モデル動物の確立と解析をはじめとする各個別研究

B．研究方法

膠原病好発系 MRL/lpr マウスと嫌発系 C3H/lpr マウスの組換え近交系を用いた遺伝子リコンビネーションとフェノタイプの解析、HTLV-I 遺伝子導入ラットやマウス虚血下肢モデルを用いた分子病態解析、バージャー病に対する新しい血管再生治療と微小血管描出法の検討を行った。

（倫理面への配慮）

動物実験については各研究実施機関の動物実験指針に基づき研究を行った。臨床研究については各研究実施機関の倫理委員会の承認を受け、全例インフォームドコンセントを得て行った。

C．研究結果

11 系統の膠原病関連組換え近交系マウス（MXH/lpr マウス）を樹立した。各系統について血清学的、病理学的形質ならびに遺伝子学的形質を検討し、系統間分布表を作成した。また、HTLV-I 遺伝子導入ラット（env-pX ラット）では、$CD25^+CD4^+$ 免疫制御性 T 細胞の機能障害が必ずしも血管炎の発症には関与しないこと、ならびに正常ラット由来の血管内皮細胞を免疫することにより壊死性血管炎の発症が促進されることを明らかにした。さらに、マウス虚血下肢モデルに対する FGF-2 遺伝子治療において、FGF-2 依存性の VEGF-C 発現とその受容体 Flt-4 を介したシグナルの重要性を示唆するとともに、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に血小板由来増殖因子（PDGF-B）の発現低下が関与していることを示した。臨床的には、バージャー病に対する新しい血管再生治療として、自己骨髄細胞移植の有効性ならびに安全性を示し、その評価のための微小血管描出法を確立した。さらに、より低侵襲の治療としてアドレノメデュリン併用末梢血単核球移植の有効性を確認した。

D．考察

11 系統の組換え近交系マウス（MXH/lpr マウス）の系統間分布表を用いることにより血管炎を含む膠原病の発症・病態や環境要因との関連性に関わる遺伝子を明らかにすることができると考えられる。また、HTLV-I 遺伝子導入ラットから自己血管反応性 T 細胞クローンを樹立することにより、新しい血管炎誘導モデルの確立や血管炎標的分子の解明が期待される。マウス虚血下肢モデルを用いた分子病態解析により、血管の新生過程や成熟過程に VEGF-C や Flt-4、PDGF-B が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。バージャー病に対する新しい血管再生治療として、アドレノメデュリン併用末梢血単核球移植の有効性ならびに安全性をさらに確認する必要がある。

E．結論

血管炎ならびに血管障害の動物モデルとして、env-pX ラットおよびマウス下肢虚血モデルとともに組換え近交系 MXH/lpr マウスが有用である。今後、これらのモデル動物を用いた解析から、ヒト血管炎の発症・病態に関わる遺伝子や分子が明らかになると期待される。また、バージャー病に対する新しい血管再生治療として、アドレノメデュリン併用末梢血単核球移植は低侵襲かつ有効であると考えられた。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「機能的」血管・リンパ管新生の分子メカニズムに関する研究

分担研究者　居石克夫　九州大学大学院医学研究院・教授

研究要旨

本研究では、血流回復を伴う機能的血管・リンパ管新生過程における、各種血管新生因子の発現動態、さらにそれぞれの因子の特異的活性遮断による血管機能を解析した。生体において最も効率よく血流回復を行う血管新生因子は塩基性線維芽細胞増殖因子（FGF-2）であり、FGF-2の発現に伴い、VEGF、VEGF-C、HGF、PDGF などの種々の因子が時系列において調和の取れた発現を行うこと、これらの因子が一部でも活性を消失すると、機能性血管の形態学的ならびに機能的異常に至ることが判明した。このような血管新生過程の多段階的各種因子発現制御を「機能的血管新生における階層的発現制御機構」として提唱した。

A．研究目的

生体内において血管新生活性を示す因子は多数報告されているものの、必ずしも全ての新生血管が臓器潅流を伴う新生血管形成（「機能的」血管新生）に至る訳ではない。本研究では、機能的血管新生効率の最もよい分子を同定し、その分子メカニズムの解析を行った。

B．研究方法

雄性 C57BL/6 マウスに重症虚血モデルを作成、各種血管新生因子を発現するセンダイウイルスベクターを投与した。血流回復効果はレーザードップラー法、各種血管新生因子の発現の経時的変化を real-time PCR 法、ELISA 法にて定量化した。各リガンド、受容体に対する中和活性を持つ特異抗体にて活性を遮断し、遺伝子発現量、治療効果をモニターした。

（倫理面への配慮）

本研究は九州大学組み換え DNA 実験委員会の承認にもと、P2 動物実験室で施行した。動物実験は、九州大学動物実験委員会の審議・許可を得た。

C．研究結果

1．機能的血管新生には FGF-2 が最も効果的であった。
2．FGF-2 は内因性 VEGF、HGF を強力に誘導すること、これらの活性を遮断すると FGF-2による機能的血管新生は破綻した。
3．FGF-2 による VEGF、HGF 発現誘導には PDGF-A/p70S6K 系が最も重要であった。
4．FGF-2 は血管のみならずリンパ管も誘導し、内因性の VEGF-C、PDGF-B の発現を増強した。この系には内皮細胞／間葉系細胞間の VEGF-C/PDGF-B クロストークが重要であった。

D．考察、E．結論

FGF-2 により、階層的・多段階的に内因性血管新生因子群が誘導され、このシステムの破綻が、血管数と血流の乖離に至ることが示された。

G．研究発表

1.　論文発表（2002-2004 年度）

J Immunol 168:450-457, 2002.
Circ Res 90:966-973, 2002.
Am J Physiol 283:H2021-2028, 2002.
Circ Res 91:723-730, 2002.
Gene Ther 10:213-218, 2003.
Gene Ther 10:272-280, 2003.
J Atheroscler Thromb 10:109-116, 2003.
Gene Ther 10:1161-1169, 2003.
Gene Ther 10:1381-1391, 2003.
Am J Physiol 285:H173-H182, 2003.
Circ Res 94:385-393, 2004.
Circ Res 94:1186-1194, 2004.
Circulation. 110:2444-2452, 2004.
Pathol Res Pract 200: 517-529, 2004.
Eur Surg Res. 36:323-330, 2004.
Human Pathol, 2005 (in press)
Rheumatology (Oxford). 2005 (in press)
Arterioscler Thromb Vasc Biol (in revision)
Cancer Res (in revision)

2.　学会発表

日本病理学会、日本動脈硬化学会など多数。

H．知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

特になし。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

膠原病関連組換え近交系による膠原病病態ならびにそのゲノム的基盤に関する研究

分担研究者　能勢眞人　愛媛大学 病因・病態学講座 ゲノム病理学分野 教授
共同研究者　小森浩章、岩崎美津子 同分野助手、 森士朗 東北大学大学院歯学研究科 講師、
鈴木和男 国立感染症研究所生体防御物質室

研究要旨: 世界で始めてとなる膠原病関連組換え近交系 MXH/lpr マウスを膠原病好発系 MRL/Mp-lpr/lpr (MRL/lpr)マウスと嫌発系マウス C3H/HeJ-lpr/lpr (C3H/lpr)から樹立した。このマウスを用い血管炎をはじめとする病理学的形質や MPO-ANCA 等の血清学的形質を経時的に観察するとともに、両親系統間の遺伝子多型をゲノムワイドに決定し系統間分布表(strain distribution pattern table、SDP 表)を作成した。その結果、各種膠現病、自己免疫形質を遺伝的に分離・固定して発症させることができた。腎血管炎の重症度と MPO-ANCA 抗体価との間に明らかな相関関係はなかった。また QTL (quantitative trait loci) 解析によっていくつかの膠原病、自己免疫形質の感受性遺伝子座をマップした。加えて、膠原病関連 RI 系 MXH/lpr マウスを用いてある種の環境因子が膠原病病態に与える作用について解析しうるマウス実験系の確立を試みた。

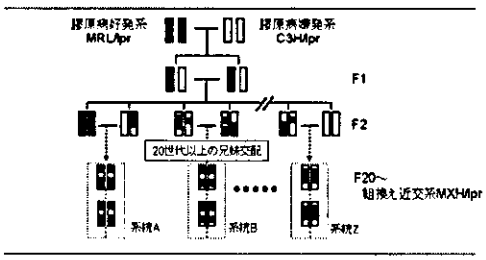
A. 研究目的

MRL/lpr マウスは apoptosis に関与する *Fas* 遺伝子の欠損変異である *lpr* 遺伝子を有しており、その形質の由来であるリンパ節腫脹 (lymphoproliferation) に加えて、各種自己抗体の産生や血管炎、糸球体腎炎等の膠原病病態の自然発症を見る膠原病モデルマウスである。しかし *lpr* 遺伝子を MRL 系以外の系統、例えば C3H 系に backcross した場合には、リンパ節腫脹や自己免疫現象(自己抗体高値など)は見られるが血管炎や糸球体腎炎などの膠原病病態の自然発症はみられない(＝膠原病嫌発系 C3H/lpr)。また同じ *lpr* 遺伝子を持ちながら膠原病を好発する MRL/lpr と膠原病を発症しない C3H/lpr との交配系(雑種第二世代F2、戻し交配系N2)を作成すると各種膠原病病態を分離して発症させ得る。これらの結果から MRL/lpr の膠原病病態発症には *lpr* 遺伝子のみならず複数の疾患感受性遺伝子の関与が必要なこと、しかもこれらの感受性遺伝子は、個々ではわずかな作用を持つ遺伝子が複数存在下では同義的に補足し合い量的形質や閾値効果のある質的形質の発現に関与する polygene 系であることが明らかとなった。実際、これまでに我々はMRL/lprとC3H/lprとの交配系を用いて血管炎、関節炎、唾液腺炎をはじめとする様々な膠原病病態の感受性遺伝子座をマッピングし、感受性遺伝子の polygenic な作用(epistasis など)を確認している。

今回我々が世界で初めて樹立した膠原病関連組換え近交系 (recombinant inbred strain, RI 系) MXH/lpr マウスは、膠原病好

発系 MRL/lpr と嫌発系 C3H/lpr の雑種第二世代を出発点に兄妹交配を 20 世代以上繰り返し作出された近交系のセットで、各系統はそれぞれ異なった両親系統のゲノムモザイクで、しかも各遺伝子座はホモ接合子として遺伝的に固定される(Fig. 1)。この結果、複数の感受性遺伝子が形質発現に関与する polygenic な形質について、(1) 病理学的形質など、これまで経時的観察が困難だった膠原病病態の形質を詳細に評価できる、(2)外部環境を変動させてその影響を評価できるため、病態の誘導、促進因子の解析や薬剤効果判定が可能である、(3)各系統の発現形質と遺伝形質の相関を見ることで、感受性遺伝子座の同定が可能である、というこれまでの交配系にはなかった利点を有しており、膠原病の病態解明や治療法の開発に重要な役割を果たしうる貴重な動物モデルである。

Fig.1 組換え近交系作出の概念



組換え近交系各系統はそれぞれ異なった両親系統のゲノムモザイクであり、しかも各遺伝子座はホモ接合子となっており、遺伝的に均一と見なせる。

上記の背景をふまえ、平成14-16年度にかけて RI 系 MXH/lpr の膠原病病態の解析を行い、疾患特異的とされる血清学的形質と病態との関連、環境要因の膠原病病態に与える影響、さらにこれらの膠原病病態の感受性遺伝子座について解析することを目的とした。

B. 研究方法

1. 組換え近交系マウスの確立(Fig.1)

膠原病好発系 MRL/lpr と嫌発系 C3H/lpr の雑種第二世代を出発点に兄妹交配を 20 世代以上繰り返し膠原病関連組換え近交系 MXH/lpr を樹立した。

2. 膠原病病態の解析

RI 系 MXH/lpr 11 系統について、2ヶ月齢、3ヶ月齢、5ヶ月齢における血清学的(免疫グロブリン、リウマチ因子、抗 dsDNA 抗体、MPO-ANCA 等)、病理学的形質(腎血管炎、糸球体腎炎、関節炎など)を評価した。また両親系統間で多型を有する遺伝子座についてマイクロサテライトマーカーを用いゲノムワイドに 10-20cM 毎に各系統の遺伝子型を決定した系統間分布表(strain distribution pattern table, SDP 表)を作成した。観察された各種形質について、疾患特異的とされる血清学的形質と病態との関連ならびに QTL 解析による感受性遺伝子座の同定を行った。QTL 解析には MapManagerQTX を用いた。(http://mapmgr.roswellpark.org/mmQTX.html)

3.環境要因の膠原病病態への影響をゲノムレベルで解析する実験系の確立

MXH/lpr 8 系統に 2 本鎖 RNA アナログである polyinosinic:polycytidylic acid (poly I:C) を 6 週齢から 18 週齢まで 3 日毎に腹腔内投与し、膠原病病態の誘導・促進作用を観察した。

(倫理面に対する配慮)

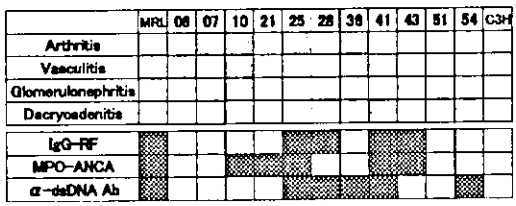
上記の動物実験はすべて愛媛大学動物実験指針に基づき行った。

C. 研究結果

1. 膠原病関連組換え近交系マウス MXH/lpr を樹立した。

2. MXH/lpr 11 系統の自己免疫病態・病理形質を経時的に解析し、感受性遺伝子座を検索した。この結果、各種自己免疫病態・病理形質が系統間で分離して発現し、これらの形質が各系統で遺伝的に固定されることが明らかとなった(Fig.2)

Fig. 2　5ヶ月齢における各種自己免疫病態

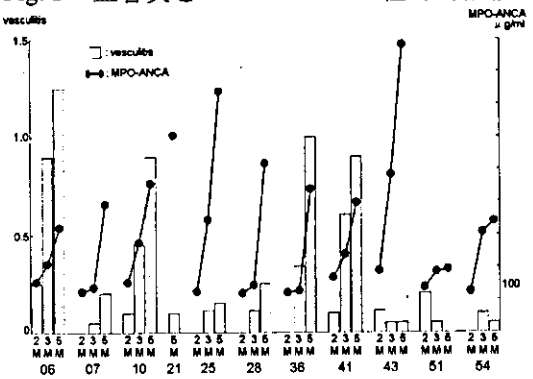


(網掛けは好発系であることを示す)

血管炎に関しては系統 06, 10, 36, 41 を血管炎好発系として見出すことができた。

これまでに自己免疫病との関連が指摘されている各種自己抗体について、病理所見との関連を経時的に検討したが、血管炎と MPO-ANCA の関連をはじめとして、両者に明らかな相関関係はなかった(Fig. 3)。

Fig. 3　血管炎と MPO-ANCA の経時的推移



また作成した SDP 表によって、各系統はそれぞれ異なった両親系統のゲノムモザイクであり、各遺伝子座はほとんどホモ接合子となっていることが確認された(Fig. 4)。

satellite marker	position (cM)	6	7	10	21	25	28	36	41	43	51	54
D5Mit145	0	C	M	M	C	C	M	C	M	C	M	C
D5Mit74	11	C	C	M	C	C	C	C	M	C	M	C
D5Mit149	19	C	M	M	C	C	C	C	C	C	M	C
D5Mit233	29	M	C	C	C	C	C	M	C	C	C	C
D5Mit58	41	M	M	M	C	M	C	M	M	C	C	C
D5Mit115	56	M	M	M	M	M	C	M	C	C	C	C
D5Mit431	66	M	M	M	M	M	C	M	C	C	C	C
D5Mit33	78	C	C	M	M	C	C	M	C	M	C	C

Fig.4　SDP 表の例 (Chr.5)

(M は MRL アレル、 C は C3H アレルを示す)

観察された形質について、SDP 表に基づき QTL 解析を行った結果、いくつかの形質の感受性遺伝子座をマップした。

3. 環境因子による自己免疫病発症の誘導・促進効果をゲノムレベルで解析するモデルを作成した。

poly I:C 投与により全系統について膵炎の誘導効果が、いくつかの系統について糸球体腎炎の促進効果が観察された。QTL 解析の結果、誘導・促進作用の感受性遺伝子座を異なった locus にマップした。

D. 考察

今回樹立した RI 系 MXH/lpr はそれぞれ異なった両親系統のゲノムモザイクであり、背景遺伝子の再構成によって各種形質が分離すること、および各遺伝子座がほとんどホモ接合子となっているため分離して現れた形質が遺伝的に固定されることが明らかとなった。この結果から MXH/lpr は病態の経時的観察や環境要因の影響を評価しうるマウスモデルであることが示された。

血清学的形質と病理学的形質を経時的に評価した結果、各種形質の好発系を見出し、形質の経時的変化を観察することができ、加えて QTL 解析により形質の感受性遺伝子座をマップした。

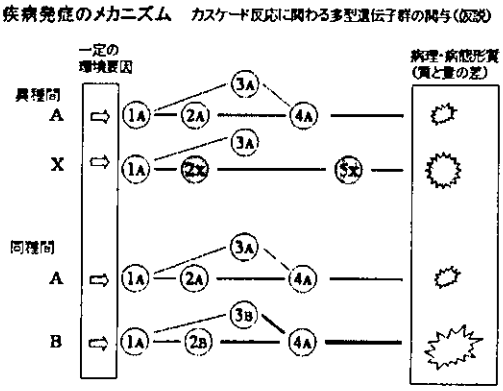
RI 系作出の利点として時間軸で形質間の因果関係を評価しうるという点がある。今回腎血管炎と MPO-ANCA 値の相関関係は経時的観察によっても認められなかった。

血管炎関連病態の QTL 解析によって、いずれも suggestive linkage レベルで 5 ヶ月齢の腎血管炎の QTL を Chr.3 (D3Mit88)、Chr.4 (D4Mit4)に、MPO-ANCA については 5 ヶ月齢雄を Chr.1 上、3 ヶ月齢雄は Chr.7 上にマップした。

我々は以前、MRL/lpr と C3H/lpr の N2 マウスから組織病理学的な選択によって、血管炎を発症する recombinant congenic McH5/lpr マウスを樹立しているが、このマウスは血管炎を高率に発症するにもかかわらず MPO-ANCA は正常レベルにとどまっていた。加えて腎血管炎と MPO-ANCA の QTL の解離は、各々の形質が異なった遺伝的基盤によって規定されている可能性を示唆するものである。これらの結果をあわせると、少なくとも MRL/lpr と C3H/lpr の交配系マウス・マウス系統群では血管炎病態と MPO-ANCA に関連がない可能性が考えられる。両者の因果関係の有無について検討し、さらに膠原病病態感受性遺伝子座を絞り込むため、RI 系間の交配系(recombinant inbred intercross, RIX)の作成に着手した。

2 本鎖 RNA はウイルス感染時産生される病原体由来分子で poly I:C とともに生体では toll-like receptor 3 (TRL3)により認識され自然免疫系を活性化する。従って poly I:C 投与によってウイルス感染状況をシミュレートすることが可能で、実際、投与によって糸球体腎炎、膵炎といった自己免疫病態が促進・誘導された。これらの誘導・促進効果は各系統間で異なり、感受性遺伝子座もそれぞれ異なった領域にマップされた。これらの結果は我々が提唱している「膠原病病像の発症にはカスケード反応に関わる遺伝子群の遺伝子多型が大きな役割を果たす」という仮説(Fig. 5)を支持するものと考えている。

Fig. 5



現在 QTL 解析とは異なったアプローチとしてシグナル伝達下流の分子の遺伝子多型についても解析を進めている。

E. 結論

1. 膠原病関連組換え近交系マウス MXH/lpr を樹立し各系統の自己免疫病態・病理形質を経時的に解析した。QTL 解析によりいくつかの形質について感受性遺伝子座をマップした。

2. 現時点まで血管炎と MPO-ANCA の関連性を見いだしていない。現在新たに RIX を作成し両者の因果関係や形質の感受性遺伝子座について検討を進めている。

3. 環境因子による自己免疫病発症の誘導・促進効果をゲノムレベルで解析するモデルを作成した。

[研究協力者]

寺田美穂、(愛媛大学医学部 病因・病態学講座 ゲノム病理学分野)

G. 研究発表

1.論文発表

1. Takahashi S, Araki K, Araki M, Ito MR, Nakatani K, Fujii H, Izui S, Vassalli P, Nose M.: Suppression of experimental lupus nephritis by aberrant expression of the solublu E-selectin gene. Pathol Int 52:175-180, 2002

2. Kamogawa J, Terada M, Mizuki S, Nishihara M, Yamamoto H, Mori S, Abe Y, Morimoto K, Nakatsuru S, Nakamura Y, Nose M.: Arthritis in MRL/lpr mice is under the control of multiple gene loci with an allelic combination derived from the original inbred strains. Arthritis Rheum 46:1067-1074, 2002.

3. Mori H, Kitazawa R, Mizuki S, Nose M, Maeda S, Kitazawa S.: RANK ligand, RANK, and OPG exoression in type II collagen-induced arthritis mouse. Histiochem Cell Biol 117: 283-292, 2002

4. Qu WM, Miyazaki T, Terada M, Okada K, Mori S, Kanno H, Nose M.: A novel autoimmune pancreatitis model in MRL mice treated with polyinosinic:polycytidylic acid. Clin Exp Immunol 129:27-34,2002.

5. Masui N, Takagi Y, Nishikawa T, Yanabe M, Nose M, Sato K.: New PCR-RFLP analysis for the mouse Tnfsf6gld gene caused by a point mutation in the Tnfsf6 (tumor necrosis factor(Ligand) superfamily, member 6) locus. Exp Anim 51:501-503, 2002.

6. Murata K, Nose M, Ndhlovu LC, Sato T, Sugamura K, Ishii N.: Constitutive OX40/OX40 ligand interaction induces autoimmune-like diseases. J Immunol 169; 4628-4636, 2002

7. Magoori K, Kang MJ, Iwasaki MI, Kakuuchi H, Ioka RX, Kamataki A, Kim DH, Asaba H, Iwasaki S. Takei YA, Sasaki M, Usui S, Okazaki M, Takahashi S, Ono M, Nose M, Sakai J, Fujino T, Yamamoto TT.: Severe Hypercholesterolemia, impaired fat tolerance and advanced atherosclerosis in mice lacking both LDL receptor-related protein 5 (LRP5) and apolipoprotein J Biol Chem 278(13): 11331-11336. 2003

8. Fujino T, Asaba H, Kang MJ, Ikeda Y, Sone H, Takada S, Kim DH, Ioka RX, Ono M, Tomoyori H, Okubo M, Murase T, Kamataki A, Yamamoto J, Magoori K, Takahashi S, Miyamoto Y, Oishi H, Nose M, Okazaki M, Usui S, Imaizumi K, Yanagisawa M, Sakai J, Yamamoto TT.: Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) is essential for normal cholesterol metabolism and glucose-induced insulin secretion. Proc Natl Acad Sci U S A 100; 229-234, 2003

9. Yamada A, Miyazaki T, Lu LM, Ono M, Ito MR, Terada M, Mori S, Hata K, Nozaki Y, Nakatsuru S, Nakamura Y, Onji M, Nose M.: Genetic basis of tissue-specificity of vasculitis in MRL/lpr mice. Arthritis Rheum 48: 1445-1451. 2003

10. Fujii H, Nakatani K, Arita N, Ito MR, Terada M, Miyazaki T, Yoshida M, Ono M, Fujiwara T, Saiga K, Ota T, Ohtani H, Lockwood M, Sasaki T, Nose M: Internalization of antibodies by endothelial cells via fibronectin implicating a novel mechanism in Lupus nephritis. Kidney Int 64:1662-1670, 2003

11. Ito MR, Ono M, Itoh J, Nose M.: Bone marrow transfer of autoimmune diseases in an MRL strain of mice with a deficit in functional

Fas ligand: Dissociation of arteritis from glomerulonephritis. Pathol Int 53; 518-524, 2003

12. Hasegawa H, Kohno M, Sasaki M, Inoue A, Ito MR, Terada M, Hieshima K, Maruyama H, Miyazaki J, Yoshie O, Nose M, Fujita S: Antagonist of Monocyte Chemoattractant Protein 1 meliorates the initiation and progression of lupus nephritis and renal vasculitis in MRL/lpr mice. Arthritis Rheum 48: 2555-66. 2003

13. Yoh K, Shibuya K, Morito N, Nakano T, Ishizaki K, Shimohata H, Nose M, Izui S, Shibuya A, Koyama A, Engel JD, Yamamoto M, Takahashi S.: Transgenic overexpression of GATA-3 in T lymphocytes improves autoimmune glomerulonephritis in mice with a BXSB/MpJ-Yaa genetic background. J Am Soc Nephrol 14: 2494-502, 2003.

14. Okamoto M, Takagi M, Kutsuna M, Hara Y, Nishihara M, Zhang MC, Matsuda T, Sakanaka M, Okamoto S, Nose M, Ohashi Y: High expression of interleukin-1 β in the corneal epithelium of MRL/lpr mice is under the control of their genetic background. Clin Exp Immunol 136:239-244, 2004

15 Nakatani K, Fujii H, Hasegawa H, Terada M, Arita N, Ito MR, Ono M, Takahashi S, Saiga K, Yoshimoto S, Iwano M, Shiiki H, Saito Y, Nose M.: Endothelial adhesion molecules in glomerular lesions: association with their severity and diversity in lupus models. Kidney Int 65: 1290-300, 2004.

16. Morito N, Yoh K, Hirayama A, Itoh K, Nose M, Koyama A, Yamamoto M, Takahashi S.: Nrf2 deficiency improves autoimmune nephritis caused by the fas mutation lpr. Kidney Int 65: 1703-13, 2004.

17. Takasawa N, Munakata Y, Ishii KK, Takahashi Y, Takahashi M, Fu Y, Ishii T, Fujii H, Saito T, Takano H, Noda T, Suzuki M, Nose M, Zolla-Patzner S, Sasaki T.: Human parvovirus B19 transgenic mice become susceptible to polyarthritis. J Immunol 173: 4675-83, 2004.

18. Oishi H, Miyazaki T, Mizuki S, Kamogawa J, Lu L-M, Tsubaki T, Arita N, Ono M, Yamamoto H, Nose M.: Accelerating effect of an MRL gene locus on the severity and onset of arthropathy in DBA/1 mice. Arthritis Rheum, in press.

19. 能勢眞人:リンケージ解析によるループス腎炎感受性遺伝子の解析 腎と透析 52: 209-214、2002

20. 能勢眞人:膠原病の感受性遺伝子ーモデルマウスゲノミクス 医学のあゆみ 別冊医学のあゆみ 免疫疾患 医歯薬出版 224-229、2002

21. 能勢眞人:膠原病モデルマウスーゲノム病理学の視点からー 病理と臨床 20;399-406、2002

22. 伊藤美津子、能勢眞人:半月体形成性腎炎における糸球体内皮障害 腎と透析 52: 625-630, 2002

23. 能勢眞人:多因子病としてのリウマチ性疾患の原因遺伝子:モデルマウスゲノムからのアプローチ 日本臨床免疫学会誌、25: 52-54、2002

24. 能勢眞人, 曲衛敏, 宮崎龍彦, 伊藤美津子, 寺田美穂, 岡田和代, 小野栄夫, 森士朗, 菅野祐幸: 多因子疾患としての新たな自己免疫性膵炎モデルの確立. 日本疾患モデ

ル学会記録 19: 7-13. 2003

25. 能勢眞人: 血管炎研究がめざすあらたな展開(4) 血管炎のゲノミクス: 医学のあゆみ 206(2): 140-2. 2003

26. 能勢眞人:ポリジーン疾患としての系統的血管炎ーモデルマウスから学ぶものー BIO Clinica 18: 1180-1184, 2003

27. 能勢眞人:動物モデルをどのようにヒトの疾患に応用するか. Molecular Medicine 41: 157-162, 2004

28. 能勢眞人、鴨川淳二: *lpr* マウスに見られる関節炎のその遺伝子. 分子リウマチ 1: 293-301, 2004

2. 学会発表

国内学会

1. 吉田美奈子、有田典正、寺田美穂、小野栄夫、能勢眞人:ループス腎炎の感受性遺伝子の解析:EOD ループスマウスに発症した毛色変質からのアプローチ、第 91 回日本病理学会総会、横浜、2002.3.26

2. 宮崎龍彦、小野栄夫、澤崎達也、遠藤八重太、能勢眞人:オステオポンチン多型蛋白によるマクロファージに対するプライミング効果の機能的差異の解析、第 91 回日本病理学会総会、横浜、2002.3.28

3. 大石久史、水木伸一、鴨川淳二、寺田美穂、椿崇仁、宮崎龍彦、小野栄夫、山本晴康、能勢眞人:関節炎モデルマウスのゲノム解析: enthesopathy の感受性遺伝子座と促進遺伝子座の同定、第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会、2002.4.24

4. 中谷公彦、藤井博司、長谷川均、吉本宗平、寺田美穂、岩野正之、椎木英夫、能勢眞人: 可溶性E-selectinによるMRL/lprマウスの管内増殖型糸球体病変に対する抑制効果、第 45 回日本腎臓学会学術総会、2002.5.24

5. 小野栄夫、中谷公彦、能勢眞人. 加齢に伴う脾臓 B 細胞数の減少を規定する遺伝要因、第 32 回日本免疫学会総会、東京、2002.12.4

6. 小野栄夫、吉田美奈子、能勢眞人. 自己免疫病の正常化を表現型とする自然突然変異マウスの研究:糸球体腎炎の病態解析 日本病理学会会誌 92(1): 166. 2003

7. 能勢眞人、曲衛敏、宮崎龍彦、寺田美穂、岩崎美津子、小野栄夫、菅野祐幸. poly I:C 投与による自己免疫性膵炎、原発性胆汁性肝硬変の誘導、第33回日本病理学会総会、福岡、2003.4.24 日本病理学会会誌 92(1): 345. 2003

8. 長谷川均、河野政志、佐々木美穂、井上淳、村岡正武、能勢眞人、藤田 繁. ケモカインアンタゴニストによる MRL/lpr マウスの唾液腺炎抑制効果の検討 Ryumachi 43(2): 305. 2003

9. 小野栄夫、小森浩章、能勢眞人. 自己免疫病モデルマウスの正常化突然変異種の研究:糸球体腎炎の病態解析 日本免疫学会総会・学術集会記録 33: 130. 2003

10. Zhang MC, Ono M, Miyazaki T, Nose M. Interaction of the two genetic loci responsible for vasculitis onset in murine model. 日本免疫学会総会・学術集会記録 33: 197, 2003

11. 小森浩章、岩崎美津子、小野栄夫、森士朗、鈴木和男、能勢眞人. 組換え近交系 MXH/lpr 系マウスを用いた膠原病病態とそのゲノム的基盤の解析 日本免疫学会総会・学術集会記録 33: 215. 2003

12. 小森浩章、岩崎美津子、森士朗、能勢眞人. 新規組換え近交系 MXH/lpr マウスによる膠原病病態、病理の時間動態と遺伝的基盤の解析、日本病理学会会誌 93(1): 217, 2004

13. 小森浩章、寺田美穂、岩崎美津子、小野栄夫、森士朗、能勢眞人. 新規組換え近交系

マウスを用いた膠原病の環境要因感受性のゲノム解析. 第21回日本疾患モデル学会総会、京都、2004.11.11-12

国際学会

1. Komori H, Terada M, Tsuji Y, Iwazaki M, Mori S, Nose M. Attempt on genetic analysis of the susceptibility to an environmental chemical using a new set of recombinant inbred strain of mice MXH/lpr. 1st International Symposium on Environmental Behavior and Ecological Impacts of Persistent Toxic Substances, 18-19 March 2004, Matsuyama, Japan

2. Komori H, Terada M, Ito MR, Hata K, Nozaki Y, Mori S and Nose M. Genetic dissection of autoimmune disease phenotypes in a new recombinant inbred strain of mice MXH/lpr. 1st International Conference on Basic and Clinical Immunogenomics, Oct. 3-7, 2004, Budapest, Hungary

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Buerger 病に対する血管再生治療と微小血管造影法による評価に関する研究

分担研究者　由谷親夫　岡山理科大学　理学部臨床生命科学科　教授

研究要旨
Buerger 病に対する血管再生治療の有効性、安全性および評価に関する検討を行った。平成 14 年度は骨髄細胞移植治療を 6 例に施行し、臨床症状の改善が認められた。平成 15 年度は、血管再生治療の評価法として、微小血管造影法を臨床導入した。血管再生治療前後に微小血管造影法を施行し、再生血管を評価することに成功した。平成 16 年度は、低侵襲の血管再生治療として、血管再生能、移植細胞アポトーシス抑制作用を有する生体内ペプチドであるアドレノメデュリンと末梢血単核球移植の複合的血管再生治療の臨床応用し、Buerger 病による難治性皮膚潰瘍の改善が認められた。

A. 研究目的

Buerger 病は、末梢血管病変が主体で、血行再建術が困難な症例が多く、重症例では、虚血肢の切断に至ることが少なくない。近年、末梢動脈閉塞症に対する血管再生治療が開発され、注目されている。本研究では、重症の Buerger 病に対する血管再生治療の一つである自己骨髄細胞移植治療および低侵襲の血管再生治療として新たに開発したアドレノメデュリンと末梢血単核球移植の複合的血管再生治療ならびに血管再生治療の評価法として、新エネルギー産業技術開発機構(NEDO)の支援により開発された病院設置型微小血管造影装置の臨床応用を行い、有効性と安全性を検討した。

B. 研究方法

血行再建術が困難な Fontaine III 度または IV 度の重症 Buerger 病患者を対象とし、担癌および網膜症を除外した。自己骨髄細胞移植は全身麻酔腹臥位で腸骨より骨髄液 700-800ml 採取し、比重遠心法で単核球を分離(50ml)後、0.5ml ずつ虚血肢に筋注した。末梢血単核球移植とアドレノメデュリンの複合的血管再生治療では、アフェレーシスにより末梢血単核球液(50ml)を採取し、0.5ml ずつ虚血肢に筋注、アドレノメデュリンを 0.01 μg/kg/min で持続皮下注した。病院設置型微小血管造影装置は、2004 年 3 月に当センターに移設され、4 月より血管再生治療前後で、虚血肢下腿の微小血管を評価した。

(倫理面への配慮)

倫理委員会で審議・承認され、臨床応用の際には、本検査の合併症・効能・不利益・利益を説明し、本人及び家族の同意の元に施行した。

C. 研究結果

自己骨髄細胞移植治療は 7 例に施行し、1 例で安静時疼痛が改善、6 例で皮膚潰瘍が改善した。末梢血単核球移植とアドレノメデュリンの併用による複合的血管再生治療は 1 例に施行し、皮膚潰瘍が改善した。Ankle Brachial Pressure Index および通常の血管造影では有意な変化は認められなかった。1 例に微小血管造影法を施行し、血管再生治療後の再生血管が描出できた。重篤な有害事象は見られなかった。

E. 結論

難知性の重症 Buerger 病に対する自己骨髄細胞移植は有用な治療と思われた。末梢血単核球移植とアドレノメデュリンによる複合治療は低侵襲で有効な治療と考えられるが、今後、臨床症例を増やし、その有効性と安全性を確認する必要がある。微小血管造影法は、血管再生治療の有用な評価法として期待できる。

G. 研究発表

循環器病研究委託費 13 公-1
循環器病研究委託費 16 公-6

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

共同研究者

西上和宏　国立循環器病センター　心臓血管内科
知久正明　国立循環器病センター　心臓血管内科
盛　英三　国立循環器病センター　心臓生理部
永谷憲歳　国立循環器病センター　再生医療部

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットに認める壊死性血管炎の発症機序に関する研究

分担研究者　吉木　敬　　北海道大学名誉教授
研究協力者　石津明洋　　北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野講師

研究要旨
ヒトT細胞白血病ウイルスHTLV-IのenvpX遺伝子を導入したラット（envpXラット）は、ヒト結節性多発動脈炎類似の壊死性血管炎を発症する。その発症には、導入遺伝子を発現する胸腺フレームワークが重要な役割を果たしていると考えられている。一方、本ラットでは疾患発症前から$CD25^+CD4^+$免疫制御性T細胞（T-reg）に機能障害が認められる。envpXラットと同系正常ラットの骨髄キメラを用いた検討により、T-regの機能障害は壊死性血管炎の発症に直接的には関与していないことが明らかとなった。また、疾患未発症のenvpXラットに正常ラット由来の血管内皮細胞を免疫することにより壊死性血管炎の発症が促進されたことから、本ラットには自己血管内皮細胞反応性T細胞が存在する可能性が高いと考えられた。

A．研究目的

envpXラットは、ヒト結節性多発動脈炎類似の壊死性血管炎を発症する。その発症には、導入遺伝子を発現する胸腺フレームワークが重要な役割を果たしていると考えられている。envpXラットに認める壊死性血管炎の発症機序の解明を目的とし、研究を行った。

B．研究方法

1）envpXラットでは疾患発症前から$CD25^+CD4^+$免疫制御性T細胞（T-reg）に機能障害が認められる。そこで、T-regの機能障害が壊死性血管炎の発症に関与しているかどうか、envpXラットと同系正常WKAHラットの骨髄キメラを作製し、解析した。

2）envpXラットの壊死性血管炎の発症に自己血管反応性T細胞が関与していることを確認するため、疾患未発症のenvpXラットを培養血管細胞で免疫し、血管炎の発症が促進されるかどうか検討した。

（倫理面への配慮）
本学の動物実験指針に基づいて行った。

C．研究結果

1）envpXラットの骨髄を移植したWKAHラットではT-regの機能障害が認められたが、壊死性血管炎の発症は確認されなかった。

2）正常ラット由来の血管内皮細胞を免疫したenvpXラットでは、7頭中6頭に壊死性血管炎の発症が認められた。操作に用いたアジュバントのみ免疫した8頭では、壊死性血管炎の発症は確認されなかった。

D．考察

1）envpXラットでは、T-regの機能障害は胸腺フレームワークと無関係に生じており、同細胞における導入遺伝子の発現が機能障害の主因であると考えられた。

2）envpXラットに存在する自己血管内皮細胞反応性T細胞が免疫操作により活性化され、壊死性血管炎の発症が促進さ

されたと考えられた。

E．結論

1）T-reg の機能障害は、env-pX ラットの壊死性血管炎の発症に直接的には関与していない。

2）env-pX ラットより、自己血管反応性 T 細胞クローンを抽出することが可能である。

F．研究発表

1．論文発表

1) Yoshiki T. Etiopathogenesis of necrotizing vasculitis. Intern Med 41: 39-40, 2002.

2) Fugo K, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Sugaya T, Higuchi M, Tsuji M, Abe A, Suzuki A, Shibata M, Takahashi T, Yoshiki T. The role of the thymus in development of necrotizing arteritis in transgenic rats carrying the env-pX gene of human T cell leukemia virus type I. Am J Pathol 161: 755-761, 2002.

3) Sugaya T, Ishizu A, Ikeda H, Nakamaru Y, Fugo K, Higuchi M, Yamazaki H, Imai K, Yoshiki T. Clonotypic analysis of T cells accumulating at arthritic lesions in HTLV-I env-pX transgenic rats. Exp Mol Pathol 72: 56-61, 2002.

4) Kikuchi K, Ikeda H, Tsuchikawa T, Tsuji T, Tanaka S, Fugo K, Sugaya T, Tanaka Y, Tateno M, Maruyama N, Yoshiki T. A novel animal model of thymic tumour: development of epithelial thymoma in transgenic rats carrying human T lymphocyte virus type I pX gene. Int J Exp Pathol 83: 247-255, 2002.

5) Ogawa Y, Ishizu A, Ishikura H, Yoshiki T. Elution of IgA from the kidney tissue exhibiting a glomerular IgA deposition and analysis of the antibody specificity. Pathobiology 70: 98-102, 2002.

6) Harada H, Furuya M, Ishikura H, Sindo J, Koyanagi T, Yoshiki T. Expression of matrix metalloproteinase in the fluids of renal cystic lesions. J Urol 168: 19-22, 2002.

7) Higuchi M, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Fugo K, Tsuji M, Abe A, Sugaya T, Suzuki A, Takahashi T, Koike T, Yoshiki T. Functional alteration of peripheral $CD25^{+}CD4^{+}$ immuno- regulatory T cells in a transgenic rat model of autoimmune diseases. J Autoimmun 20: 43-49, 2003.

8) Ishizu A, Tsuji T, Abe A, Saito S, Takahashi T, Ikeda H, Meruelo D, Yoshiki T. Transduction of dominant negative ATF-1 suppresses the pX gene expression in joint fibroblastic cells derived from HTLV-I transgenic rats. Exp Mol Pathol 74: 309-313, 2003.

9) Tomaru U, Ikeda H, Jiang X, Ohya O, Yoshiki T. Provirus expansion and deregulation of apoptosis-related genes in the spinal cord of a rat model for human T-lymphocyte virus type I-associated myeloneuropathy. J Neurovirol 9: 530-538, 2003.

10) Tanaka S, Ikeda H, Otsuka N, Yamamoto Y, Sugaya T, Yoshiki T. Tissue specific high level expression of a full length human endogenous retrovirus genome transgene, HERV-R, under control of its own promoter in rats. Transgenic Res 12: 319-328, 2003.

11) Kawada M, Ikeda H, Takahashi T, Ishizu A, Ishikura H, Katoh H, Yoshiki T. Vaccination of fusion cells of rat dendritic and carcinoma cells prevents tumor growth in vivo. Int J Cancer 105: 520-526, 2003.

319-328, 2003.
11) Kawada M, Ikeda H, Takahashi T, Ishizu A, Ishikura H, Katoh H, Yoshiki T. Vaccination of fusion cells of rat dendritic and carcinoma cells prevents tumor growth in vivo. Int J Cancer 105: 520-526, 2003.
12) Nakaya H, Ishizu A, Ikeda H, Tahara M, Shindo J, Itoh R, Takahashi T, Asaka M, Ishikura H, Yoshiki T. In vitro model of suicide gene therapy for alpha-fetoprotein-producing gastric cancer. Anticancer Res 23: 3795-3800, 2003.
13) Yano T, Kishimoto T, Tomaru U, Kawarada Y, Kato H, Yoshiki T, Ishikura H. Further evidence of hepatic transdifferentiation in hepatoid adenocarcinomas of the stomach: quantitative analysis of mRNA for albumin and hepatocyte nuclear factor-4α. Pathology 35: 75-78, 2003.
14) Yang L, Ikeda H, Lai Y, Yoshiki T, Takada K. Epstein-Barr virus infection of rat lymphocytes expressing human CD21 results in restricted latent viral gene expression and not in immunoblastic transformation. J Med Virol 70: 126-130, 2003.
15) Tsuchikawa T, Ikeda H, Kikuchi K, Tsuji T, Baba T, Ishizu A, Tanaka Y, Kato H, Yoshiki T. Hematopoietic progenitor cells as possible origins of epithelial thymoma in a human T lymphocyte virus type I pX gene transgenic rat model. Lab Invest 84: 245-252, 2004.
16) Abe A, Ishizu A, Ikeda H, Hayase H, Tsuji T, Miyatake Y, Tsuji M, Fugo K, Sugaya T, Higuchi M, Matsuno T, Yoshiki T. Bone marrow cells carrying the env-pX transgene play a role in the severity but not prolongation of arthritis in human T-cell leukemia virus type-I transgenic rats: a possible role of articular tissues carrying the transgene in the prolongation of arthritis. Int J Exp Pathol 85: 191-200, 2004.
17) Miyatake Y, Ikeda H, Michimata R, Koizumi S, Ishizu A, Nishimura N, Yoshiki T. Differential modulation of gene expression among rat tissues with warm ischemia. Exp Mol Pathol 77: 222-230, 2004.
18) Yamamoto Y, Ishizu A, Ikeda H, Otsuka N, Yoshiki T. Dexamethasone increased plasminogen activator inhibitor-1 expression on human umbilical vein endothelial cells: an additive effect to tumor necrosis factor-α. Pathobiology 71: 295-301, 2004.
19) Takada M, Tada M, Tamoto E, Kawakami A, Murakawa K, Shindoh G, Teramoto K, Matsunaga A, Komuro K, Kanai M, Fujiwara Y, Shirata K, Nishimura N, Miyamoto M, Okushiba S, Kondo S, Hamada J, Katoh H, Yoshiki T, Moriuchi T. Prediction of lymph node metastasis by analysis of gene expression profiles in non-small cell lung cancer. J Surg Res 122: 61-69, 2004.
20) Murakawa K, Tada M, Takada M, Tamoto E, Shindoh G, Teramoto K, Matsunaga A, Komuro K, Kanai M, Kawakami A, Fujiwara Y, Kobayashi N, Shirata K, Nishimura N, Okushiba S, Kondo S, Hamada J, Katoh H,

Yoshiki T, Moriuchi T. Prediction of lymph node metastasis and perineural invasion of biliary tract cancer by selected features from cDNA array data. J Surg Res 122: 184-194, 2004.
21) Tamoto E, Tada M, Murakawa K, Takada M, Shindo G, Teramoto K, Matsunaga A, Komuro K, Kanai M, Kawakami A, Fujiwara Y, Kobayashi N, Shirata K, Nishimura N, Okushiba S, Kondo S, Hamada J, Yoshiki T, Moriuchi T, Katoh H. Gene-expression profile changes correlated with tumor progression and lymph node metastasis in esophageal cancer. Clin Cancer Res 10: 3629-3638, 2004.
22) 石津明洋、吉木　敬：ウイルス遺伝子導入ラットとリウマチ性病態．リウマチ科 27: 213-217, 2002.
23) 辻　宗啓、石津明洋、池田　仁、吉木　敬：モデル動物からみたリウマチ性疾患．リウマチ科 27 (suppl 1): 101-106, 2002.
24) 石津明洋、吉木　敬：血管炎研究がめざす新たな展開「ウイルス誘発のモデル動物」医学のあゆみ 206: 143-145, 2003.
25) 石津明洋：自己免疫疾患の病態形成に関する新たな細胞・分子・遺伝子「HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットにおける $CD25^{+}CD4^{+}T$ 細胞機能異常と自己免疫疾患の発症」臨床免疫 42: 415-420, 2004.

2. 学会発表

1) 阿部麻美、石津明洋、辻　宗啓、早瀬広子、菅谷壽晃、池田　仁、吉木　敬：HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットの関節炎発症機序に関する検討．第 91 回日本病理学会総会，横浜．日本病理学会会誌 91: 201, 2002.
2) 大塚紀幸、田中　敏、山本友希代、石津明洋、池田　仁、吉木　敬：ERV3 トランスジェニックラットにおけるヒトレトロウイルス外被蛋白発現と免疫機能の解析．第 91 回日本病理学会総会，横浜．日本病理学会会誌 91: 201, 2002.
3) 辻　隆裕、菊地和徳、土川貴裕、宮武由甲子、石津明洋、高橋利幸、池田　仁、吉木　敬：HTLV-I pX トランスジェニックラットに発生した腫瘍における遺伝子発現の検討．第 91 回日本病理学会総会，横浜．日本病理学会会誌 91: 224, 2002.
4) 阿部麻美、石津明洋、辻　宗啓、早瀬広子、菅谷壽晃、池田　仁、吉木　敬：HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットにおける関節炎発症機序に関する検討．第 46 回日本リウマチ学会総会・学術集会，神戸．リウマチ 42: 386, 2002.
5) 辻　隆裕、池田　仁、菊地和徳、土川貴裕、富居一範、石津明洋、高橋利幸、吉木　敬：異所性移植による HTLV-I pX トランスジェニックラット胸腺腫の悪性化とその解析．第 61 回日本癌学会総会，東京．Jpn J Cancer Res 93 (Suppl): 58, 2002.
6) 阿部麻美、石津明洋、辻　宗啓、早瀬広子、菅谷壽晃、鈴木　昭、高橋利幸、池田　仁、吉木　敬：HTLV-I env-pX 遺伝子導入ラットに認める関節炎の発症ならびに持続機序に関する検討．第 32 回日本免疫学会総会・学術集会、東京、日本免疫学会総会・学術集会記録 32: 296, 2002.
7) Hayase H, Ishizu A, Higuchi M, Abe A, Tsuji M, Ikeda H, Yoshiki H. Comparative characterization of CD25+CD4+ T cells between HTLV-I transgenic and wild type rats. 11th