

- role of 15d-PGJ2 in chondrocyte apoptosis. JBC 2004; 279:37939-37950.
13. 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)
  14. Karasawa R, Ozaki S, Nishioka K, Kato T. Autoantibodies to Peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases. Microbiol Immunol. (in press)
  15. Masuko-Hongo K, Kato T. Recent developments in treatment of osteoarthritis. Current Drug Inflammation and Allergy (in press).
  16. 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)
  17. 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)
- 2、学会発表
1. 中村洋、田中道明、加藤智啓、西岡久寿樹: Hyaluronate の軟骨細胞の MMP-1 抑制作用とそのメカニズム. 第3回 Biomatrix Forum 研究発表会 パレスホテル(東京) 1/17, 2004
  2. 加藤智啓:リウマチ性疾患のプロテオミクス. ハイテク・リサーチ・センターフォーラム 2004 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 1/20, 2004
  3. 唐澤里江、関根太一、大岡正道、三井健一、貫名信行、西村裕之、尾崎承一、西岡久寿樹、加藤智啓: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:ペルオキシレドキシニン2に対する自己抗体. 平成15年度第2回 厚生労働科学研究費補助金班会議 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」都市センターホテル(東京) 2/13, 2004
  4. 増子佳世、加藤智啓:酸化ストレスによる蛋白抗原性の変化について:プロテオミクスによる包括的解析. 平成15年度班会議 厚生労働省難治性疾患克服研究事業「自己免疫疾患に関する調査研究」札幌市教育文化会館(北海道) 3/5-6, 2004
  5. 加藤智啓:SART mouse: Novel animal model of FMS. 線維筋痛症国際公開シンポジウム(International Symposium of Fibromyalgia) 都市センターホテル(東京) 3/22, 2004
  6. 松尾光祐、中村洋、野寄浩司、斎藤知行、西岡久寿樹、加藤智啓:関節リウマチおよび変形性関節症における滑膜細胞のプロテオーム解析. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
  7. 中村洋、加藤智啓、増子佳世、遊道和雄、西岡久寿樹:軟骨細胞の MMP、chemokine 産生および apoptosis に対する Celecoxib の影響. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
  8. 高田智子、中村浩士、松崎益徳、加藤智啓、西岡久寿樹:ウイルス性心筋炎再感染モデルにおける心筋自己抗原の同定. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
  9. 加藤智啓、中村洋、山田秀裕、尾崎承一、西岡久寿樹: 関節リウマチにおけるプロテオーム診断の可能性. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
  10. 中村洋、加藤智啓、田中道明、増子佳世、遊道和雄、西岡久寿樹: 高分子ヒアルロン酸の軟骨細胞 MAPK シグナル伝達に対する作用. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
  11. 唐澤里江、関根太一、大岡正道、西村裕之、尾崎承一、西岡久寿樹、加藤智啓: 血管炎における抗内皮細胞抗体の対応抗原に対する検討. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
  12. Shan ZZ、増子佳世、中村洋、加藤智啓、西岡久寿樹: A potential role of 15-deoxy- $\Delta$ 12,14-prostaglandin J2 in apoptosis of human articular chondrocytes. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山(岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山) 4/15-17, 2004

13. Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Nishioka K, Kato T.: Fibulin-4 is a component of cartilage and a target of autoantibodies in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
14. 芝川温之、西岡久寿樹、増子佳世、加藤智啓、遊道和雄、中村 洋: 変形性関節症における軟骨下骨髄組織による軟骨破壊機構. 第48回日本リウマチ学会総会・学術集会 岡山コンベンションセンター/ホテルグランヴィア岡山(岡山) 4/15-17, 2004
15. Kato T, Karasawa R, Ooka S, Sekine T, Nishimura H, Nukina N, Mitsui K, Ozaki S, Nishioka K.: Comprehensive analysis of targets of anti-endothelial cell antibodies. 第2回日本ヒトプロテオーム学会(Japan Human Proteomics 2004 / The 2nd Annual Meeting of JHUPO) 板橋区立文化会館 5/19-20, 2004
16. 加藤智啓: 変形性関節症と自己免疫: プロテオミクスによるOAとRAの自己免疫プロファイルの検索. 第22回日本骨代謝学会 グランキューブ大阪 8/4-7, 2004
17. 加藤智啓: リウマチ性疾患におけるプロテオミクス(Proteomics in Rheumatic Diseases). 第3回リウマチ膠原病・よつやセミナー 主婦会館プラザエフ(東京) 9/4, 2004
18. Du H, Kato T, Xiang Y, Bao C-D, Wang X-D, Masuko-Hongo K, Nakamura H, Chen S-L, Nishioka K.: Prevalance of autoantibodies against cartilage intermediate layer protein (CILP), YKL-39, osteopontin, cyclic citrullinated peptide (CCP) in patients with knee osteoarthritis of early but not of advanced stage: an evidence for the presence of a variety of autoimmunity in OA patients. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
19. Nakamura H, Shibakawa A, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Beppu M, Nishioka K.: Reparative and destructive features of pannus-like soft tissue on articular cartilage of osteoarthritis. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
20. Yudoh K, Dai SM, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K.: Proinflammatory cytokine IL-18 stimulates T-cell mediated osteoclastogenesis through the Up-regulation of RANKL and soluble RANKL in T cells. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
21. Ozaki S, Karasawa R, Ooka S, Sekine T, Nishimura H, Mitsui K, Nukina N, Nishioka K, Kato T.: Peroxiredoxin 2: A novel autoantigen for anti-endothelial cell antibodies (AECA) identified by proteomic surveillance.. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
22. Masuko-Hongo K, Murata M, Nakamura H, Yudoh K, Kato T, Nishioka K.: Mast cell-derived serine protease tryptase induces production of vascular endothelial growth factor by chondrocytes via protease-activated receptor-2: A possible role in the OA pathogenesis. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
23. Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T.: Expression of the fibulin family and its regulation by IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  in osteoarthritic articular chondrocytes. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
24. Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T.: PAR-2 expressed in osteoarthritic articular chondrocytes is regulated by IL-1 $\beta$ /TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ . The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology

- Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
25. Nakamura H, Shibakawa A, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Beppu M, Nishioka K.: Subchondral pit formatin and invading bone marrow cells are involved in the articular destruction in osteoarthritis and rheumatoid arthritis expressig cytokines and MMPs. The 11th Asia Pacific League of Associations for Rheumatology Congress (APLAR) International Convention Center (ICC), Jeju, Korea 9/11-15, 2004
  26. Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T.: Comprehensive analysis of proteins released from chondrocytes by IL-1 $\beta$  . American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  27. Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K, Kato T.: PAR-2 expressed in osteoarthritic articular chondrocytes is regulated by IL-1 beta, TNF-alpha and TGF-beta. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  28. Matsuo K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Noyori K, Saito T, Nishioka K, Kato T.: Surveillance of citrullinated autoantigens of synovium in rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  29. Nakamura H, Shibakawa A, Beppu M, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Nishioka K.: Subchondral pit formatin and invading bone marrow cells are involved in the articular destruction in osteoarthritis and rheumatoid arthritis expressig cytokines and MMPs. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  30. Karasawa R, Ooka S, Sekine T, Nishimura H, Nukina N, Mitsui K, Ozaki S, Nishioka K, Kato T.: Targets of anti-endothelial cell antibodies in patients with systemic vasculitis: identification by the proteomic approach. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  31. Yudoh K, Dai SM, Shan ZZ, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Matsuno H, Nishioka K.: Potential implication of catabolic stress-induced chondrocyte senescence in the patogenesis of OA: articular cartilage aging is mediated by stress-induced expression of caveolin-1 in OA chondrocytes. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  32. Yudoh K, Trieu vN, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Matsuno H, Nishioka K.: Role of hypoxia-inducinble factor (HIF)-1 $\alpha$  in chondrocyte viability and survival in OA cartilage. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  33. Masuko-Hongo K, Murata M, Nakamura H, Yudoh K, Kato T, Nishioka K.: Mast cell-derived serine protease tryptase induces production of vascular endothelial growth factor by chondrocytes via protease-activated receptor-2: A possible role in the OA pathogenesis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  34. Nishioka M, Fukuda K, Nakamura H, Kato T, Usui C, Arai H, Nishioka K.: Potential effect of neurotropin (R) for pain with fibromyalgia. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  35. Kato T, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Nishioka K.: Proteome analysis of peripheral B cells in rheumatoid arthritis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
  36. Nakano H, Ooka S, Matsuda T, Sekine T, Nishioka K, Ozaki S, Kato T. Identification of cofilin-1 as an autoantigen in patients with Behcet 's disease by a proteomic approach. 11th International Congress of Behcet 's

- Disease. 2004.10
37. Matsuo K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Noyori K, Saito T, Nishioka K, Kato T: The phosphoproteome profile of synoviocytes in rheumatoid arthritis is distinct from that in osteoarthritis. American College of Rheumatology, 68th Annual Scientific Meeting San Antonio, Texas 10/16-21, 2004
38. 加藤智啓、中村洋、増子佳世、遊道和雄、山田秀裕、尾崎承一、西岡久寿樹 関節リウマチにおける末梢血B細胞プロテオーム 第34回日本免疫学会 2004.12.
39. 唐澤里江、大岡正道、関根太一、西村裕之、尾崎承一、西岡久寿樹、加藤智啓. 全身性血管炎患者における抗内皮細胞抗体の対応抗原同定ープロテオミクスの手法を用いて. 第34回日本免疫学会 2004.12.

論文発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 実用新案登録

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

スタチン類の自己免疫疾患に対する治療に関する研究

分担研究者 簗田清次 (自治医科大学内科学講座アレルギー膠原病学講座)

**研究要旨**

スタチン類の多面的効果としての免疫抑制作用の解析について、ループスモデルマウス (MRL-lpr/lpr) に対して治療効果を示すか否かを検討した。フルバスタチン投与開始 8 週後ではコントロール群と比較して生存率の延長、尿一般検査で蛋白尿と潜血反応との改善などの、少なくとも短期的には MRL-lpr/lpr マウスに対して治療効果を示した。しかしながら長期投与後 (24 週後) では生存率はコントロール群と差がなく、抗 dsDNA 抗体価も上昇傾向を示し、腎組織学的所見でもループス腎炎の改善は得られなかった。フルバスタチン単独長期投与ではループスマウスの予後を改善できなかった。

**A. 研究目的**

我々は自己免疫疾患に対する新たな治療薬の探究としてリンパ球にアポトーシス誘導作用を持つ FTY720 に着目し、ループスモデルマウスに投与したところ、治療効果を示したことを報告した (J Rheumatol. 2002; 29: 707-16)。

スタチン類は HMG-CoA 還元酵素抑制によるコレステロール低下作用以外にも様々な多面的効果 (pleiotropic effect) を持ち、近年、免疫抑制作用を有することが注目されている。その機序として MHC class II の発現低下や LFA-1 と ICAM-1 結合阻害を介する副刺激シグナルの抑制に基づくことが報告されている。我々はスタチン類の免疫抑制作用の機序をアポトーシス誘導作用の観点から研究を進め、脂溶性スタチンのフルバスタチンは活性化 T 細胞に対して *in vitro* でアポトーシス誘導能を有し、その機序として protein farnesylation 阻害に基づくことを見い出した。今回はスタチン類がループスモデルマウス (MRL-lpr/lpr) に対して治療効果を示すか否かを検討した。

**B. 研究方法**

既に自己免疫病を発症している生後 4 か月齢の MRL-lpr/lpr マウス計 60 匹をコントロール群、フルバスタチン投与群 (10 mg/kg)、副腎皮質ステロイド投与群 (10 mg/kg) の 3 群に分け、週 3 回腹腔内継続投与した。効果判定は生存率、尿一般検査 (蛋白、潜血反応)、血清生化学検査 (BUN、Cr、AST、ALT、CPK、T-chol)、血清 Th1/Th2 サイトカイン濃度、血清抗 ds-DNA 抗体価を指標にした。

(倫理面への配慮)

当大学の規定に沿ってきちんと行った。

**C. 研究結果**

(1) 投与開始 4 か月後の生存率: コントロール (C) 群 (50%)、フルバスタチン (F) 投与群 (55%)、副腎皮質ステロイド (S) 投与群 (90%) (2) 尿所見: C 群  $1.3 \pm 0.4$ 、F 群  $0.4 \pm 0.2$ 、S 群  $0.6 \pm 0.2$  (火) 血清抗 ds-DNA 抗体価 (EU): C 群  $62.9 \pm 24.9$ 、F 群  $178.6$

±88.6、S群 17.7±5.3 (3)血清 INF- $\gamma$  (ng/ml):C群 45.1±12.7、F群 34.4±5.7、S群 16.0±3.9、(4)腎臓の組織学的所見ではF群ではC群と同程度のループス腎炎の所見を呈した。

#### D. 考察

今回のフルバスタチン投与実験(投与量と期間)では蛋白尿減少作用を認めたが、長期的生存率は上昇させなかった。血清抗ds-DNA抗体価はフルバスタチン投与群では逆に上昇傾向であった。スタチンには薬剤誘発性ループスの症例報告もあり、全身性エリテマトーデス(SLE)患者に投与する場合には注意を要すると考えられた。

#### E. 結論

フルバスタチン単独長期投与では、ループスモデルマウス(MRL-lpr/lpr)に対して治療効果を示さなかった。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことはない。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1)Kageyama,A.,Torikoe,K.,Iwamoto,M.,Masuyama,J.,Shibuya,Y.,Okazaki,H.,Yazawa,K.,Minota,S.:Nocardia arthritidis sp.nov.,a New Pathogen Isolated from a Patient with Rheumatoid Arthritis in Japan. Journal of Clinical Microbiology 42(6): 2366-2371,2004
- 2)Kamimura,T.,Hatakeyama,M.,Okazaki,H.,Minota,S.:Acute Gout Attack in the Wrist Joint. Intern Med 43(7):641-642,2004
- 3)Kimura,H.,Komatsuda,A.,Sawada,K.,Mimori,A.,Baba,S.,Minota,S.:Rapidly Progressed Secondary Amyloidosis in a Patient with Mixed Connective Tissue Disease. Intern

Med 43(9):878-882,2004

4)Kamimura,T.,Hatakeyama,M.,Okazaki,H.,Minota,S.:Kikuchi's disease involving the supraclavicular lymph nodes and associated with transient eruption. Rheumatol Int 2004 (online)

5)Kamimura,T.,Hatakeyama,M.,Torigoe,K.,Nara,H.,Kaneko,N.,Satou,H.,Yoshio,T.,Okazaki,H.,Minota,S: Muscular polyarteritis nodosa as a cause of fever of undetermined origin: a case report and review of the literature. Rheumatol Int 2004 (online)

6)Kamata,Y.,Nara,H.,Kamimura,T.,Haneda,K.,Iwamoto,M.,Masuyama,J.,Okazaki,H.,Minota,S: Rheumatoid Arthritis Complicated with Acute Interstitial Pneumonia Induced by Leflunomide as an Adverse Reaction. Intern Med 43(12):1201-1204,2004

##### 2. 学会発表

- 1)長嶋孝夫、岡崎仁昭、簗田清次。ビスホスフォネートのRA由来滑膜細胞に対するアポトーシス誘導能の検討。第48回日本リウマチ学会総会、岡山、平成16年4月16日
  - 2)長嶋孝夫、岡崎仁昭、簗田清次。活動期SLE患者末梢血リンパ球のCRTH2とST2Lの発現様式。第48回日本リウマチ学会総会、岡山、平成16年4月15日
- 木村洋貴、羽田兼吾、高橋裕子、長嶋孝夫、吉尾卓、岡崎仁昭、簗田清次。フローサイトメーターを用いた膠原病患者の循環血管内皮細胞(CECs)の解析。第32回日本臨床免疫学会総会、東京、平成16年10月8日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

##### 1. 特許取得

特記すべきことはない。

##### 2. 実用新案登録

特記すべきことはない。

### 3. その他

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

Laser-microdissection(LMD)法によるループス腎炎モデルマウス(MRL/lpr マウス)の腎浸潤  
T細胞に関する研究

分担研究者 伊藤 聡 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 先端応用医学専攻  
臨床免疫学 講師

**研究要旨**

ループスモデルマウスの MRL/lpr マウスを対象とし、Laser-microdissection(LMD)法と RT-PCR 法を用いて腎浸潤 T 細胞のサイトカイン産生の解析を行なった。糸球体、糸球体とほぼ同じ大きさの血管周囲浸潤細胞をくり抜いた検体を pool したのから RNA を抽出し cDNA を合成、RT-PCR 法にて Thy1、B-220、TCR-C $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-10、IFN $\gamma$  遺伝子発現を行った。24-28 週で屠殺した腎病変の明らかな二匹の糸球体では、IL-2、IFN $\gamma$  の発現を認め、一方血管周囲で IL-10 の発現を認めた。35 週まで生存したマウスでは、糸球体で IL-4 と IL-10 の発現を認め、血管周囲で IFN $\gamma$  の発現を認めた。LMD 法と RT-PCR 法を用い、ループスモデルマウスでの腎内サイトカインバランスの解析が可能であることが判明した。糸球体病変の明らかなマウスの糸球体では従来の報告(Th1 タイプの免疫反応)と一致し、この手法により腎内サイトカインバランスを正しく評価できると考えられた。また、血管炎は、糸球体腎炎とは異なる機序により惹起されている可能性が考えられた。

**A.研究目的**

私達は、ヒトループス腎炎において、LMD 法と RT-PCR 法を用いた単細胞レベルでの解析により、糸球体内浸潤細胞は Th2 タイプ T 細胞が主体である可能性を報告した。この手法がサイトカインバランスを正しく評価しているか確認するため、Th1 タイプの免疫反応により腎炎が起きていることが報告されている、ループスモデルマウスの MRL/lpr マウスを対象とし、同様の解析を行なった。また、糸球体内と、血管周囲の浸潤細胞にサイトカインバランスの違いがあるかについても検討した。

**B.研究方法**

雌 MRL/lpr マウス 3 匹の腎標本から LMD

法を用い糸球体、血管周囲に浸潤した細胞を採取した。2 匹は生後 24-28 週で屠殺し、光顕標本で糸球体腎炎、血管炎を確認した(マウス 1,2)。1 匹は生後 35 週で屠殺したが(マウス 3)光顕標本の確認を怠った。糸球体、糸球体とほぼ同じ大きさの血管周囲浸潤細胞をくり抜いた検体を pool したの、さらに単細胞レベルでくり抜いた検体を準備した。total RNA を抽出し cDNA を合成、RT-PCR 法にて Thy1、B-220、TCR-C $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-10、IFN $\gamma$  遺伝子発現を行った(図 1、2)。

**C.研究結果**

1)  $\beta$ -actin は単細胞レベルで確認できた。2) Thy1、B-220、TCR-C $\beta$  遺伝子は pool した検



体で発現を認めることができた。CD4、CD8はおおむね陰性であったが、35週で屠殺したマウス3ではCD8bが陽性であった(図3)。3) poolした検体で、24-28週で屠殺した2匹のマウスの糸球体では、IL-2、IFN $\gamma$ の発現を認め、一方血管周囲でIL-10の発現を認めた(図4)。しかし35週で屠殺したマウス3では、糸球体でIL-4とIL-10の発現を認め、血管周囲でIFN $\gamma$ の発現を認めた(図4)。結果のまとめを表1に示す。

#### D. 考察

LMD法とRT-PCR法を用い、ループスモデルマウスでの腎内サイトカインバランスの解析が可能であることが判明した。糸球体病変の明らかなマウスの糸球体では従来の報告(Th1タイプの免疫反応)と一致し、この手法により腎内サイトカインバランスを正しく評価できると考えられた。また、血管炎は、糸球体腎炎とは異なる機序により惹起されている可能性が考えられた。NoseらはMRL/lprマウスのgenetic backgroundをC3H/HeJ-lpr/lprとhybridizationしてrecombinant congenic strainのMcH5-lpr/lprを作成した。このマウスは、血管炎は来すが糸球体腎炎は発症しないため、血管炎と糸球体腎炎の発症機序は異なることが想定されている(Nose M et al., Am J Pathol, 1996)。私達の解析結果も、これに合致し興味深い。Takahashiらは、MRL/lpr.ll(long live)では、サイトカインバランスがTh2にシフトし、高 $\gamma$ グロブリン血症、自己抗体産生は起こるが臓器病変は軽いことを報告した(Takahashi S et al. J Clin Invest 1996)。35週まで生存していたマウス3はこれと同じ現象が起きていた可能性が考えられる。これまでMRL/lprマウスの腎病変は、Th1タイプが主体との報告が多かったが、Pengらは、IFN $\gamma$ ノックアウトマウス、IL-4ノックアウトマウス共に、糸球体腎炎、

血管炎の両者が軽快することを報告しており、病変の形成にはTh1,2の両者が関与していることを報告している(Peng SL et al., J Clin Invest 1996)。今後はマウスの数を増やして検討すると共に、単細胞レベルでサイトカインバランスを解析し、また、NZB/WF<sub>1</sub>、male BXSB、graft versus host reactionによるモデルマウスなど、他のループスモデルマウスでも同様の解析を行なう予定である。また、ヒトループス腎炎で、検体数を増やし解析する予定である。ループス腎炎のサイトカインバランスが明らかになれば、現在関節リウマチで著しい効果をあげている抗サイトカイン療法が有効である可能性が考えられる。

#### E. 結論

ループスモデルマウスのMRL/lprマウスで、LMD法とRT-PCR法を用いて腎浸潤T細胞のサイトカイン産生の解析が可能であった。ヒトループス腎炎でも症例数を増やしさらに検討する価値があると考えられた。糸球体病変の確認できた2匹では、糸球体で、従来の報告通りTh1タイプのサイトカインバランスが観察されたが、血管炎ではTh2タイプのサイトカインバランスが観察された。糸球体腎炎と血管炎では発症機序が異なる可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Kobayashi T, Ito S, et al. Risk of Periodontitis in Systemic Lupus Erythematosus is Associated with Fcy Receptor Polymorphisms. J Periodontology 74;378-384, 2003
2. Ito S, et al. Patient with diffuse mesangial and endocapillary proliferative glomerulonephritis with hypocomplementemia

and elevated anti-streptolysin O treated with prednisolone, angiotensin-converting enzyme inhibitor, and angiotensin II receptor antagonist. Clin Exp Nephrol 7:290-295, 2003

3. 伊藤 聡. 難治性病態の治療戦略. ループス腎炎 内科 93;283-287, 2004

4. Takahashi R, Tsutsumi A, Ohtani K, Goto D, Matsumoto I, Ito S, et al. Anti-mannose binding lectin antibodies in sera of Japanese patients with systemic lupus erythematosus. Clin Exp Immunol 136:585-590, 2004

5. Yoko W, Ito S, et al. Renal outcome and predictors of clinical renal involvement in patients with silent lupus nephritis. Nephron 98:105-111, 2004

## 2. 学会発表

1. 村田秀行他 ループス腎炎患者内浸潤 T 細胞サイトカインの単細胞レベルでの解析 第 47 回日本リウマチ学会総会、2003 年

2. 千野裕介、伊藤 聡他

Laser-microdissection(LMD)法によるループス腎炎モデルマウス(MRL/lpr マウス)の腎浸潤 T 細胞の解析 第 34 回日本免疫学会総会学術集会、2004 年

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

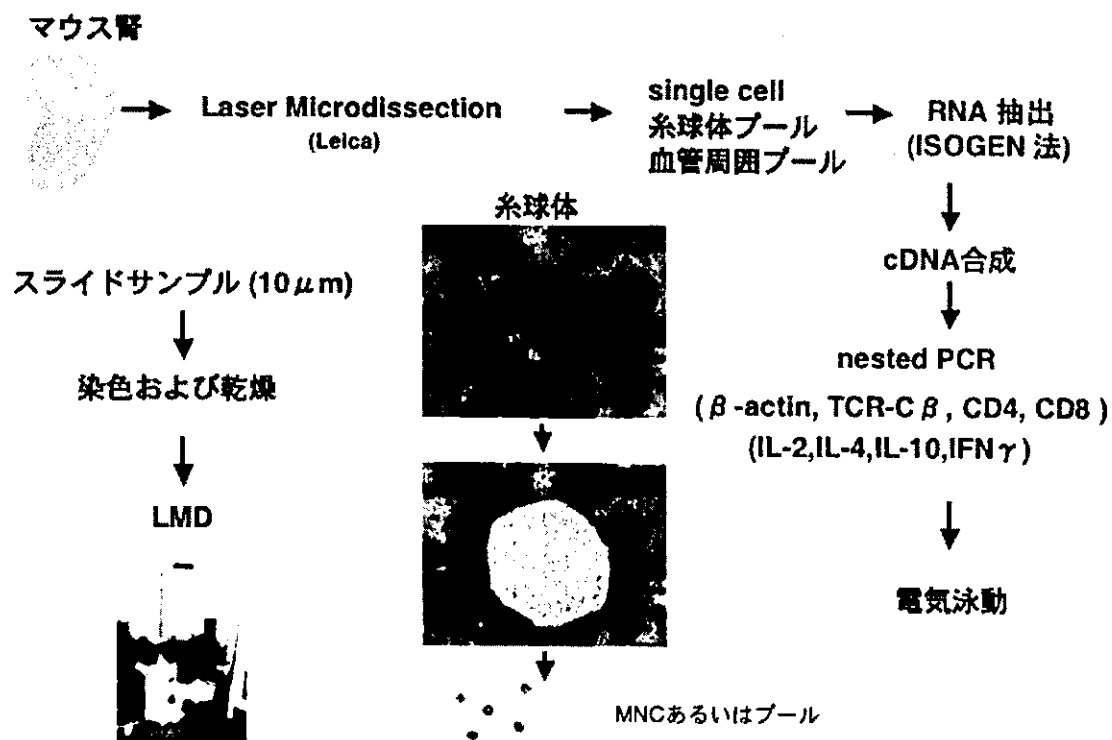


図1 実験方法

Laser Microdissection

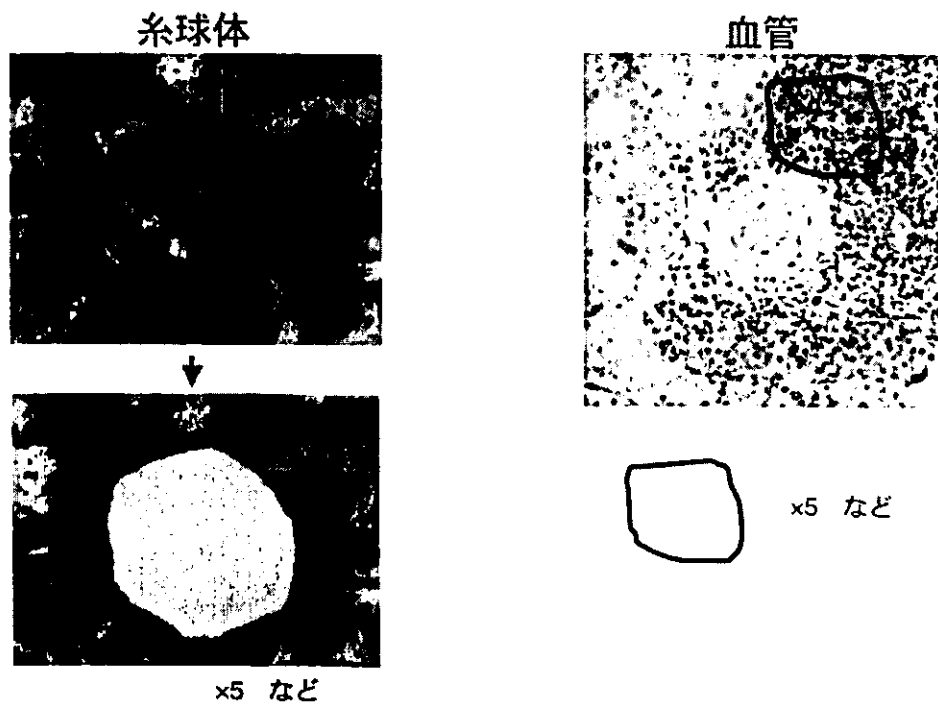


図2 Laser Microdissectionによる、糸球体、血管周囲浸潤細胞のくり抜き

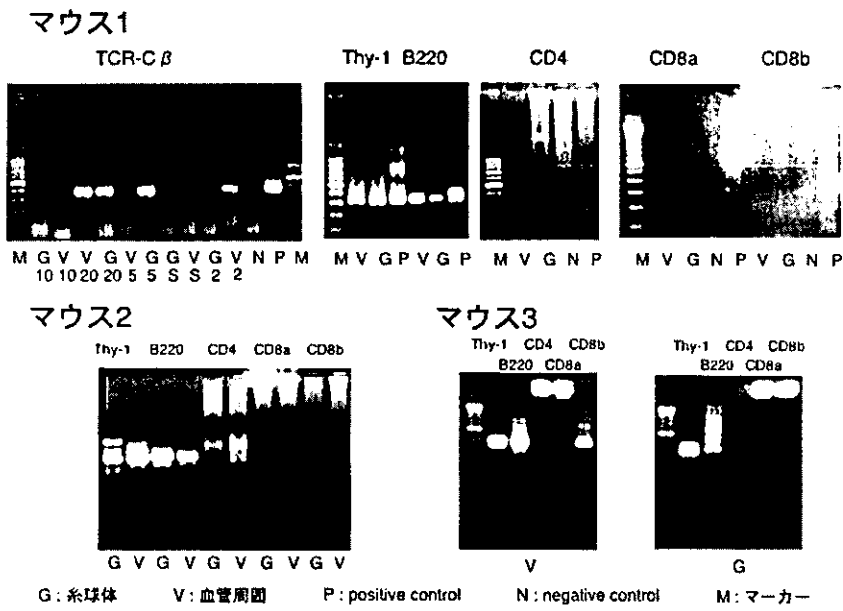


図3 TCR-C $\beta$ 、Thy-1、B220、CD4、CD8の発現

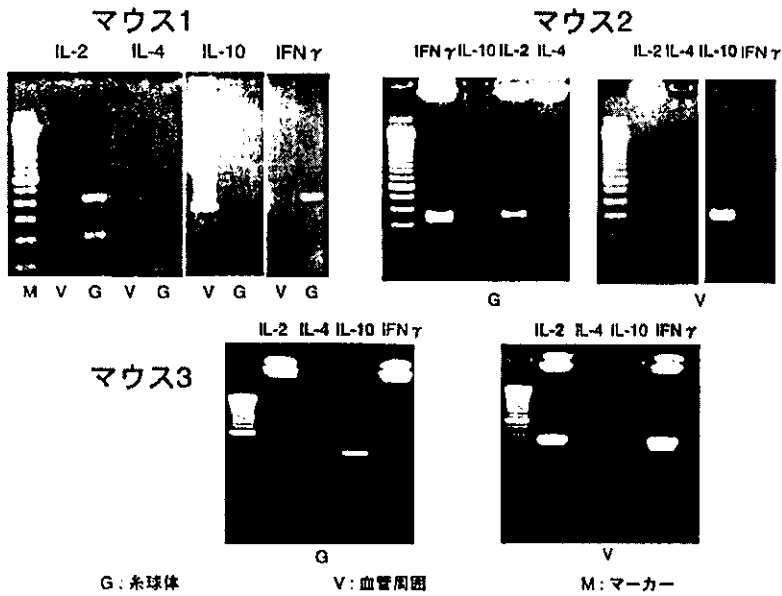


図4 各種サイトカインの発現

	Thy-1	B220	CD4	CD8 $\alpha$	CD8 $\beta$	INF- $\gamma$	IL-2	IL-4	IL-10
G1	+	+	-	-	-	+	+	-	-
G2	+	+	-	-	-	+	+	-	-
G3	+	+	-	-	-	-	-	+	+
V1	+	+	-	-	-	-	-	-	+
V2	+	+	-	-	-	-	-	-	+
V3	+	+	-	-	+	+	-	-	-

表1 結果のまとめ

## 初代培養唾液腺細胞での TLR3 シグナル伝達に関する研究

分担研究者 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科病態解析・制御学講座(第一内科) 教授  
江口勝美

### 研究要旨

私たちはシェーグレン症候群(SS)小唾液腺組織には TLR が発現し、また、ヒト唾液腺細胞株にも機能性 TLR 発現があることを報告した。今回、初代培養唾液腺細胞の TLR シグナルを検討した。免疫組織染色で、SS 小唾液腺組織の唾液腺細胞には TLR に加え、NIK、核内 NF- $\kappa$ B やリン酸化 Akt の発現が認められた。初代培養唾液腺細胞には TLR と MyD88 が発現し、TLR リガンド刺激 [PGN、poly (I:C)、LPS] では TLR3 リガンドの poly (I:C) に強く反応した。Poly (I:C) に対する反応は細胞活性化とともにアポトーシスが誘導され、poly (I:C) 添加によりこれら細胞には DNA 断片化とミトコンドリア膜電位の低下が検出されるとともに、生存細胞には CD54 発現の増強が認められた。初代培養唾液腺細胞の poly (I:C) 誘導性アポトーシスは IKK 阻害剤と PI3K 阻害剤添加により顕著に増大した。細胞活性化とアポトーシスの亢進は、SS 唾液腺組織唾液腺細胞の特徴であり、TLR3 シグナルはその病態形成に深く関与していることが示唆された。

### A. 研究目的

私たちは、シェーグレン症候群(SS)の小唾液腺組織には toll-like receptors (TLRs) が発現し、ヒト唾液腺細胞株にも機能性 TLR 発現が認められることを報告した。SS における TLR シグナルの意義の検討には初代培養細胞での機能解析が必要と考え、今回、初代培養唾液腺細胞での TLR 発現とその機能を評価した。

### B. 研究方法

以下の実験は、初代培養唾液腺細胞を用いた。初代培養唾液腺細胞は SS 口唇小唾液腺組織から単離培養した。

1. これら細胞の TLR2、TLR3、TLR4 および MyD88 発現は western blotting で評価した。
2. 初代培養唾液腺細胞に peptidoglycan (PGN; TLR2 リガンド)、poly (I:C) (TLR3 リガンド) および lipopolysaccharide (LPS; TLR4 リガンド) を加えて培養し、A. アポトーシスをミ

トコンドリア膜電位の低下 ( $\delta\psi_m$ ) と DNA 断片化  
B. 細胞活性化を CD54 と nuclear factor kappaB (NF- $\kappa$ B) 核内移行で評価した。

(倫理面への配慮)

初代培養唾液腺細胞は、文書で同意が取得されている生検症例から単離培養し、個人情報情報は匿名化により保護されている。

### C. 研究結果

#### アポトーシスの検討

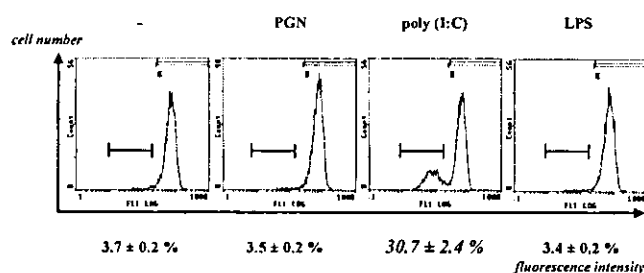
PGN と LPS とは異なり、poly (I:C) は初代培養唾液腺細胞にミトコンドリア膜電位の低下と DNA 断片化を伴うアポトーシスを誘導した (図 1)。

#### 細胞活性化の検討

Poly (I:C) 刺激後の生着細胞では、初代培養唾液腺細胞の CD54 発現は顕著に増大した (図 2)。これら細胞の NF- $\kappa$ B p65 の核内移行は poly (I:C) で誘導された。NF- $\kappa$ B 阻害剤お

よび Akt 阻害剤を用いると、初代培養唾液腺細胞の poly (I:C)誘導性アポトーシスは著明に増強された。

図1. Poly (I:C)は初代培養唾液腺細胞にアポトーシスを誘導する



SS (I) 唾腺細胞由来初代培養唾液腺細胞を単層培養した。これら細胞には、TLR2, TLR3, TLR4 および MyD88 の発現が認められた。TLR2 リガンド (peptidoglycan; PGN), TLR3 リガンド [poly (I:C)] および TLR4 リガンド (lipopolysaccharide; LPS) 存在下で初代培養唾液腺細胞を培養すると、poly (I:C) 刺激でのみアポトーシスが誘導された。アポトーシスはミトコンドリア膜電位の低下で評価した。

## D. 考察

これらの実験結果より、TLR3 は初代培養唾液腺細胞での主要な TLR であること、また、これら細胞の TLR3 は、細胞活性化シグナルとアポトーシスシグナルを同時に活性化することが示唆された。前者のシグナルでは NF-κB と Akt が重要と考えられた。

## E. 結論

細胞活性化とアポトーシスは SS 唾液腺細胞の特徴であり、TLR3 は SS の病態形成に深く関与していることが考えられた。今後は初代培養唾液腺細胞 TLR3 の内因性リガンドの検索と、TLR3 を介するシグナル伝達機序を解明したい。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tanaka F, Eguchi K (ラスト, 他 11 名) IFN-γ/JAK/STAT pathway-induced inhibition of DR4 and DR5 expression on endothelial cells is cancelled by cycloheximide-sensitive mechanism: Noble finding of cycloheximide

to regulate death receptor expression. Int J Mol Med, in press.

2. Miyashita T, Eguchi K (ラスト, 他 10 名) Osteoprotegerin (OPG) acts as an endogenous decoy receptor in tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated apoptosis of fibroblast-like synovial cells. Clin Exp Immunol 137: 430-436, 2004.

3. Migita K, Eguchi K (ラスト, 他 10 名) Suppressive effect of leflunomide metabolite (A77 1726) on metalloproteinase production in IL-1β stimulated rheumatoid synovial fibroblasts. Clin Exp Immunol. 137: 612-616, 2004.

4. Hida A, Eguchi K (ラスト, 他 12 名) Nitric oxide acts on the mitochondria and protects human endothelial cells from apoptosis. J Lab Clin Med 144: 148-155, 2004.

5. Ida H, Eguchi K (ラスト, 他 10 名) A novel mutation (T61I) in the gene encoding tumour necrosis factor receptor superfamily 1A (TNFRSF1A) in a Japanese patient with tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) associated with systemic lupus erythematosus. Rheumatology 43: 1292-1299, 2004 Oct;43: 1292-9.

6. Ishida Y, Eguchi K (ラスト, 他 4 名) The role of IL-18 in the modulation of matrix metalloproteinases and migration of human natural killer (NK) cells. FEBS Lett 569: 156-160, 2004.

7. Tanaka F, Eguchi K (ラスト, 他 5 名) Interleukin-18 induces serum amyloid A (SAA) protein production from rheumatoid synovial fibroblasts. Life Sci 74: 1671-1679, 2004.

8. Yamasaki S, Eguchi K (ラスト, 他 7 名) Cytokines regulate fibroblast-like synovial cell differentiation to adipocyte-like cells. Rheumatology 43: 448-452, 2004.

9. Kawakami A, Eguchi K (ラスト, 他 13 名) Anti-apoptogenic function of TGFβ1 for human synovial cells: TGFβ1 protects cultured synovial cells from mitochondrial

perturbation induced by several apoptogenic stimuli. Ann Rheum Dis 63: 95-97, 2004.

10. 川上 純、江口勝美(筆頭著者、他 3 名) TRAIL 欠損マウスにおける自己免疫疾患の発症 臨床免疫 41: 73-77, 2004.

11. 川上 純、江口勝美(筆頭著者、他 3 名) 関節リウマチの成因と病態生理 概論的事項 病態形成とアポトーシス 日本臨床 63: 100-105, 2005.

## 2. 学会発表

1. 川上 純、江口勝美(ラスト、他 3 名) 滑膜細胞における TRAIL を介したアポトーシス誘導の分子機序: サイトカイン成長因子による修飾 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p93, 2004.

2. 川上 純、江口勝美(ラスト、他 13 名) PDGF による滑膜細胞 TRAIL 依存症アポトーシスの制御 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p159, 2004.

3. 田中史子、江口勝美(ラスト、他 13 名) 血管内皮細胞の TRAIL 依存症アポトーシスへの IFN gamma の作用機序 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p174, 2004.

4. 川上 純、江口勝美(ラスト、他 13 名) シェーグレン症候群唾液腺組織における Toll-like receptors (TLRs) 発現の検討 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p199, 2004.

5. 玉井慎美、江口勝美(ラスト、他 13 名) IFN gamma による滑膜細胞 TRAIL 依存症アポトーシス制御機序の検討 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p279, 2004.

6. 宮下賜一郎、江口勝美(ラスト、他 10 名) Lipid raft 阻害による血管内皮細胞 TRAIL 誘導性アポトーシス感受性の増強 第 48 回日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 p280, 2004.

7. 玉井慎美、江口勝美(ラスト、他 10 名) IFN gamma による滑膜細胞 TRAIL 依存症アポトーシス制御機序の検討 日本臨床免疫学会誌 27: p256, 2004.

8. 川上 純、江口勝美(ラスト、他 12 名) シェー

グレン症候群唾液腺組織における Toll-like receptors (TLRs) 発現の検討 日本臨床免疫学会誌 27: p248, 2004.

9. 田中史子、江口勝美(ラスト、他 11 名) IFN $\gamma$  による滑膜細胞 TRAIL 依存症アポトーシス制御機序の検討 日本免疫学会総会・学術集会記録 p247, 2004.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1 行あけてください。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

#### (4) 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	巻号	ページ	出版年
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	212- 218	2005
Kataoka,H., Takahashi,S., Takase,K., Yamasaki,S., Yokosuka,T., Koike,T., Saito,T.	CD25+CD4+ regulatory T cells exert in vitro suppressive activity independent of CTLA- 4.	Int Immunol	1		in press
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	171- 179	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	3766- 3772	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
Kataoka,H., Koike.T.	Lupus mortality in Japan.	Autoimmun Rev	3	421- 422	2004
Das,H., Atsumi,T., Fukushima,Y., Shibuya,H., Ito,K., Yamada,Y., Amasaki,Y., Ichikawa,K., Amengual,O., Koike.T	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.	Clin Rheumatol	23	218- 222	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
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 kinasa(MAPK)pathway mediates induction of the tissue factor gene in monocytes stimulated with human monoclonal anti- b2Glycoprotein I antibodies.	Int Immunol	16	1633- 1641	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	440- 1442	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	1	171- 179	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 monoclonalgammopathy in a post – nonmyeloblastic stem cell transplant patient.	Ann Hematol	83	114- 116	2004
Shimizu,C., Koike.T., Sawamura,Y.	Double pituitary adenomas with distinct histological features and immunophenotypes	J Neurol Neurosurg Psychiatry	75	140	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
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
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 allogenic stem cell transplantation for acute lymphoblastic leukemia.	Am J Hematol	76	279- 282	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	337- 343	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.	45	2346- 2356	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.	Endocr J	51	25- 30	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 Res.	27	35- 42	2004
Yamamoto,S., Tsuji,T., Matsuzaki,J., Zhang,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
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.	Endocr J	51	25- 30	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 Transplant.	33	703- 707	2004
Takeuchi T, Tsuzaka K, and Abe T .	Altered expression of the T cell receptor- CD3 complex in systemic lupus erythematosus	Int Rev Immunol	23	273- 291	2004
Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, Kazuhiko Y, Kawai S, Takeuchi T, Hashimoto J, Azuma J, and Kishimoto T	Treatment of Rheumatoid Arthritis with humanized anti- IL- 6 receptor monoclonal antibody: A multicenter, double- blind, placebo- controlled trial.	Arthritis & Rheum	50	1761- 1769	2004
Mori T, Kameda H, Ogawa H, Iizuka A, Sekiguchi N, Takei H, Nagasawa H, Tokuhira M, Tanaka T, Saito Y, Amano K, Abe T, and Takeuchi T.	Incidence of cytomegalovirus reactivation in patients with inflammatory connective tissue disease who are in immunosuppressive therapy	J Rheum	31	1349- 1351	2004
Tsuzaka K, Shiraishi K, Yoshimoto K, Setoyama Y, Abe T, and Takeuchi T.	A splice variant of the TCR z mRNA lacking exon 7 leads to the down- regulation of TCR z, the TCR/CD3 complex, and IL- 2 production in SLE T cells. .	J Immunol	174	3518- 3525	2005
Takeuchi T, Tsuzaka K, Kameda H, and Amano K.	Therapeutic targets in misguided T cells in systemic lupus erythematosus.	Current Drug Target	in press.		
Takeuchi T, Tsuzaka K, Abe T, Yoshimoto K, Shiraishi K, and Amano K.	T cell abnormalities in systemic lupus erythematosus.	Autoimmunity	in press.		
Takeuchi T, Amano K, and Kameda H.	Anti- TNF biological agents in rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases.	Allergology Int	in press.		
Kameda H, Amano K, Sekiguchi N, Takei H, Ogawa H, Nagasawa H, and Takeuchi T.	Factors predicting response to a low- dose methotrexate therapy in patients with rheumatoid arthritis: A better response in male patients.	Mod Rheum	in press.		
Miyasaka N, Takeuchi T, and Eguchi K	Official Japanese guidelines for the use of infliximab for Rheumatoid Arthritis.	Mod Rheum	in press.		
Hirai, H., Adachi, T., and Tsubata, T.	Involvement of cell cycle progression in survival signaling through CD40 in B lymphocyte line WEHI- 231.	Cell Death Differ.	11	261- 269	2004
Kawamura, T., Kanai, T., Dohi, T., Uraushihara, K., Totsuka, T., Iiyama, R., Taneda, C., Yamazaki, M., Nakamura, T., Higuchi, T., Aiba, Y., Tsubata, T. and Watanabe, M.	Ectopic CD40 ligand expression on B cells trigger intestinal inflammation.	J. Immunol.	172	6388- 6397	2004
Nitschke, L. and Tsubata, T.	Molecular interactions regulate BCR signal inhibition by CD22 and CD72.	Trends Immunol.	25	543- 550	2004

Ito H, Takazoe M, Fukuda Y, Hibi T, Kusugami K, Andoh A, Matsumoto T, Yamamura T, Azuma J, <u>Nishimoto N</u> , Yoshizaki K, Shimoyama T, Kishimoto T.	A Pilot Randomized Trial of a Human Anti-Interleukin- 6 Receptor Monoclonal Antibody in Active Crohn's Disease.	Gastroenterol.	126	989- 996	2004
<u>Nishimoto N</u> , 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
<u>Nishimoto N</u> , Kishimoto T.	Inhibition of IL- 6 for the treatment of inflammatory diseases.	Curr. Opin Pharmacol	4	386- 391	2004
Mihara M, Shiina M, <u>Nishimoto N</u> , Yashizaki K, Kishimoto T, Akamatsu K.	Anti- interleukin- 6 receptor antibody inhibits murine AA- amyloidosis.	J. Rheumatol.	31	1132- 1138	2004
Becker C, Fantini MC, Schramm C, Lehr HA, Wirtz S, Nikolaev A, Burg J, Strand S, Kiesslich R, Huber S, Ito H, <u>Nishimoto N</u> , Yoshizaki K, Kishimoto T, Galle PR, Blessing M, Rose- John S, Neurath MF.	TGF- b suppresses tumor progression in colon cancer by inhibition of IL- 6 trans- signaling.	Immunity.	21	491- 501	2004
Kunitomi A, Konaka Y, Yagita M, <u>Nishimoto N</u> , Kishimoto T, Takatsuki K.	Humanized anti- interleukin- 6 receptor antibody induced long- term remission in a patient with life- threatening refractory autoimmune hemolytic anemia.	Int. J. Hematol.	80	246- 249	2004
Doganci A, Eigenbrod T, Krug N, De Santis,GT, Hausding M, Erpenbeck VJ, Haddad, E,Bopp T, Kallen KJ, Herz U, Schmitt S, Luft C, Hecht O, Hohlfeld JM, <u>Nishimoto N</u> , Yoshizaki K, Kishimoto T, Rose- John S, Renz H, Neurath MF, Galle PR, Finotto S.	The IL-6 $\alpha$ chain controls lung CD4+CD25+ Treg development and function during allergic airway inflammation in vivo.	J. Clin. Invest.	115	313- 325	2005
Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M, Woo P, <u>Nishimoto N</u> , Yoshizaki K, Kishimoto T.	Therapeutic Efficacy of Humanized Recombinant Anti- IL 6- Receptor Antibody for Children with Systemic- Onset Juvenile Idiopathic Arthritis.	Arthritis Rheum	52	818- 825	2005
Mihara M, <u>Nishimoto N</u> , Ohsugi Y.	Effect of anti- mouse interleukin- 6 receptor antibody in autoimmune mouse models.	Prog. in Monocl. Antibody Res.			in press
<u>Nishimoto N</u> .	Clinical study in patients with Castleman's disease, Crohn's disease and rheumatoid arthritis in Japan.	Clin. Rev. in Allergy and Immunol.			in press
Li, N., Nakamura, K., Jiang, Y., Tsurui, H., Matsuoka, S., Abe, M, Ohtsuiji, 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 systemic lupus erythematosus.	Hum. Mol. Genet.	13	171- 179	2004
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	2118-2121	2004