

6) 田中良哉、辻村静代、齋藤和義. 膠原病治療に於ける薬剤抵抗性の臨床と基礎. 第33回日本臨床免疫学会総会（シンポジウム）京都, 平成17年10月28-29日

#### H.知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

##### 1. 特許取得

1) 田中良哉. Fas 抗原発現増強剤（特開2003-171282）

2) 田中良哉、澤向範史. Akt シグナル経路の活性化阻害を目的として使用するレフルノミド（特願2005-81972）

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

免疫疾患に対する免疫抑制療法等先端的新規治療法に関する研究  
難治性自己免疫疾患に対する自己末梢血 CD34 陽性細胞移植

分担研究者 原田 実根 九州大学大学院医学研究院病態修復内科学分野・教授  
研究協力者 塚本 浩 九州大学病院第一内科・助手

研究要旨

難治性自己免疫疾患に対する新規治療法として自己末梢血 CD34 陽性細胞移植を施行した。対象は全身性硬化症 9 例、皮膚筋炎 1 例、ウェゲナー肉芽腫症 1 例の計 11 例で、治療関連死は認めず、合併症としてウイルス感染症を高頻度に認めたが、いずれも抗ウイルス薬によりコントロール可能であった。有効性に関しては、全身性硬化症における皮膚硬化や間質性肺炎の改善、皮膚筋炎における間質性肺炎の改善、ウェゲナー肉芽腫症における肉芽腫の改善が認められた。難治性自己免疫疾患に対する自己末梢血 CD34 陽性細胞移植の安全性と有効性が明らかになった。

A.研究目的

膠原病をはじめとする自己免疫疾患に対する治療の進歩はめざましいが、まだあらゆる治療に抵抗性で予後不良または著しい QOL の低下を来す症例がまだ一部に存在する。本研究では、このような治療不応性自己免疫疾患に対する新規治療法としての自己末梢血幹細胞移植 (auto-PBSCT) の安全性と有効性を検討することが目的である。

B.研究方法

対象疾患は全身性硬化症(SSc)、筋症状の乏しい皮膚筋炎(ADM)、その他従来の治療に抵抗性の自己免疫疾患とし、疾患ごとに適格基準とともに除外基準を設けた。末梢血幹細胞の動員には CY4g/m<sup>2</sup> に引き続き G-CSF を投与しアフエーシスによって大量の末梢血幹細胞採取を行った。採取した末梢血単核球は自己反応性のリンパ球を除去する目的で CliniMACS を用いて CD34 陽性細胞に純化した。移植前治療としては CY200mg/kg を単独投与し、移植当日に 2x10<sup>6</sup>/kg 以上の CD34 陽性細胞を輸注した。

(倫理面への配慮)

本研究は九州大学大学院医学研究院倫理委員会の承認を得ている。本療法の施行にあたっては全例に対し、説明と同意の取得を行っている。

C.研究結果

以上のプロトコールに従って、SSc9例、ADM1例、ウェゲナー肉芽腫症1例に対し auto-PBSCT を施行した。SSc9例の年齢は34～62歳で中央値は54歳、性別は男性が2例、女性が7例であった。全員が間質性肺炎を合併していた。輸注した CD34 陽性細胞の中央値は 4.2(2.1～9.1)x10<sup>6</sup>/kg であった。好中球の生着(500/ $\mu$ l 以上)は中央値で移植後第11日(9～17日)で、血小板の生着(5万/ $\mu$ l 以上)は中央値で移植後第13日(9～20日)であった。原疾患に対する効果では、スキンスコアが全例で25%以上の改善を示した。指尖潰瘍を合併していた1例では潰瘍の改善傾向とサーモグラフィ上の手指皮膚温の上昇を認めた。間質性肺炎について、9例中6例で動脈血酸素分圧の上昇を認めた。抗Scl-70抗体が陽性の7例のうち、6例で抗体価の低下を認めたが陰転化例はなかった。合併症としては5例でサイトメガロウイルス

ス抗原血症、2例でアデノウイルス膀胱炎、4例で帯状疱疹を認めたが、いずれも抗ウイルス薬の投与で軽快・改善した。

ADMの症例は、54歳女性で急速進行性の間質性肺炎の合併があり、auto-PBSCTを実施した。移植後、間質性肺炎の改善に伴い動脈血酸素分圧が66から93mmHgへ上昇、間質性肺炎のマーカーであるKL-6は3769から940U/mlへと低下した。合併症としてはリステリア敗血症、サイトメガロウイルス抗原血症を認めた。ウェゲナー肉芽腫症の症例は、21歳男性で原病に伴う左眼窩内腫瘍による眼球突出が難治性のため、auto-PBSCTを実施した。移植後眼球突出の改善を認め、感染症の合併もなかったが、19ヶ月後に左眼窩内腫瘍の再増大傾向を認めた。

以上全例でCliniMACSによるCD34陽性細胞の純化を行ったが、純度は96%、回収率は76%と良好であった。11例において治療関連死を認めなかった。

#### D. 考察

治療不応性の自己免疫疾患に対するauto-PBSCTの安全性および有効性が確認されつつある。大量免疫抑制療法とauto-PBSCTを受けた11例では1例も治療関連死を認めず、安全性に関しては良好な結果といえる。移植片よりリンパ球が除去されているため高頻度にウイルス感染を認めた。疾患によっても異なるが、例えば全身性硬化症に対するauto-PBSCTのヨーロッパにおける治療関連死亡率は7%程度と報告されている。有効性に関し、全身性硬化症における皮膚硬化、間質性肺炎、皮膚筋炎に合併する間質性肺炎、ウェゲナー肉芽腫症の肉芽腫が改善した。欧米の報告で間質性肺炎に対する有効性の報告は少ないが、評価法や症例の選択の差異によるものと推測される。

本療法は移植前治療により自己反応性のリンパ球を根絶するとともに、輸注する細胞からリンパ球を除去することにより、移植したCD34陽性細胞由来の、自己に反応しない免疫系が再構築されることが有効性の機序と考えられてき

たが、最近では本療法が自己免疫疾患における免疫系のインバランスを是正することが重要という考えも強調されている。移植片についてCD34陽性細胞に純化する群と純化しない群で治療成績に差がないとする報告もあり、CD34陽性細胞純化の必要性については今後の検討課題と考えられる。

#### E. 結論

不応性自己免疫疾患に対する大量免疫抑制療法はauto-PBSCTの併用で安全に実行可能で期待できる治療効果が示唆され、その有効性を検証するため第II相無作為化比較試験の実施が望まれる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Mitoma,H., Horiuchi,T., Hatta,N., Tsukamoto,H., Harashima,S., Kikuchi,Y., Otsuka,J., Okamura,S., Fujita S., Harada,M. Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF- $\alpha$ . *Gastroenterology* 128 376-392. 2005

2) Okamura,J., Utsunomiya,A., Tanosaki,R., Uike,N., Sonoda.S., Kannagi.M., Tomonaga.M., Harada.M., Kimura,N., Masuda,M., Kawano,F., Yufu,Y., Hattori,H., Kikuchi,H., Saburi,Y. Allogeneic stem-cell transplantation with reduced conditioning T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 105 4143-4145. 2005

3) Ishikawa,F., Yasukawa,M., Lyons,B., Yoshida,S., Miyamoto,T., Yoshimoto,G., Watanabe,T., Akashi,K., Shultz,LD., Harada,M. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor  $\gamma$  hain<sup>muU</sup> mice. *Blood* 106 1565 - 1573. 2005

- 4) Numata,A., Shiomoda,K., Kamezaki,K., Haro,T., Kakumitsu,H., Shide,K., Kato,K., Miyamoto,T., Yamashita,Y., Oshima,Y., Nakajima,H., Iwama,A., Aoki,K., Takase,K., Gondo,H., Mano,H., Harada,M. Signal transducers and activators of transcription 3 augments the transcriptional activity of CCAAT/Enhancer-binding protein  $\alpha$  in granulocyte colony-stimulating factor signaling pathway. *J Biol Chem* 280 12621-12629. 2005
- 5) Kawano,N., Ishikawa,F., Shimoda,K., Yasukawa,M., Nagafuji,K., Miyamoto,T., Baba,E., Tanaka,T., Yamasaki,S., Gondo,H., Otsuka,T., Ohsima,K., Shultz,LD., Akashi,K., Harada,M. Efficient engraftment of primary adult T-cell leukemia cells in newborn NOD/SC1D/  $\beta$  2-microglobulin<sup>null</sup> mice. *Leukemia* 19 1384-1390. 2005
- 6) Imamura,R., Miyamoto,T., Yoshimoto,G., Kamezaki,K., Ishikawa,F., Henzan,H., Kato,K., Takase,K., Numata,A., Nagafuji,K., Okamura,T., Sata,M., Harada,M., Inaba,S. Mobilization of human lymphoid progenitors after treatment with granulocyte colony-stimulating factor. *J Immunol* 175 2647-2654. 2005
- 7) Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Miyamoto T, Aoki K, Takase K, Henzan H, Himeji D, Koyoma T, Miyake K, Inoue Y, Nakashima H, Otsuka T, Tanaka Y, Nagasawa K, Harada M: A phase I - II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease. *Ann Rheum Dis.* (in press)
2. 学会発表
- 1) 塚本 浩、堀内孝彦、三苦弘喜、宮川弘、宮城友豪、民本泰浩、内野愛弓、木本泰孝、清水早希子、中島 衡、大塚 毅、原田実根:全身性硬化症に対する超大量免疫抑制療法と自己末梢血幹細胞移植: 間質性肺炎に対する効果について. 第 49 回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 17-20 日、横浜市
- 2) 木本泰孝、堀内孝彦、三苦弘喜、塚本 浩、宮川弘、民本泰浩、宮城友豪、内野愛弓、原田実根: 膜型 TNF の内向きシグナルに関する遺伝子群の網羅的探索. 第49回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 17-20 日、横浜市
- 3) 三苦弘喜、堀内孝彦、塚本 浩、八田信朗、木本泰孝、民本泰浩、宮城友豪、内野愛弓、原田実根: Infliximab (Ifx)は膜型 TNF を介した内向きシグナルによりアポトーシスおよび細胞周期停止を誘導する.第49回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 17-20 日、横浜市
- 4) 原田実根:九州大学病院における治験体制整備.治験体制整備支援事業活動実績報告書、2005 年 6 月 7 日、東京都
- 5) 原田実根 : Stem cell transplantation in adults. 学術国際シンポジウム「免疫の進化」、2005 年 8 月 27 日、東京都
- 6) Harada M, Nakashima H, Tsukamoto H, Nagafuji K, Nakashima H, Takahiko Horiuchi T: A phase I-II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease. The 10<sup>th</sup> congress of Asia-Pacific Bone Marrow Transplantation, October 13-16,2005, Hangzhou, China
- 7) Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Nakashima H, Harada M. High-dose immunosuppression and autologous peripheral

blood stem cell transplantation in severe rheumatic disease: improvement of interstitial pneumonia. 2005 ACR/ARHP annual scientific meeting, November 14-17, 2005, San Diego, USA.

8) 三苫弘喜、堀内孝彦、塚本 浩、馬場英司、原田実根: 膜型 TNF の細胞間移動現象に関する検討. 日本免疫学会総会、2005 年 12 月 13-15 日 横浜市

9) 原田実根: 造血幹細胞移植の現状. 第 33 回日本内科学会九州支部生涯教育講演会、2006 年 1 月 28 日、福岡市

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

厚生労働科学研究費補助金（免疫・アレルギー疾患予防・治療研究事業）  
分担研究報告書

自己免疫疾患における自己抗体産生 B 細胞を標的とした治療法の開発

分担研究者 長澤 浩平 佐賀大学医学部内科学 教授  
研究協力者 多田 芳史 佐賀大学医学部内科学 講師  
小荒田 秀一 佐賀大学医学部内科学 助手

研究要旨

自己免疫疾患では自己反応性 T 細胞とならんで、自己抗体産生 B 細胞は病態形成の主要な部分を占めている。自己抗体産生 B 細胞を標的とした治療法は難治性自己免疫疾患の有用な治療法となる。しかし、自己抗体産生 B 細胞を標的とする自己免疫疾患の有効な治療法は現在のところ確立されていない。RP105 陰性 B 細胞は、抗 DNA 抗体をはじめとした自己抗体を産生し自己免疫病態に深く関与していることが明らかになった。RP105 陰性 B 細胞の出現機構を解明するとともに、同細胞を標的とした新たな治療法の開発を検討している。自己抗体産生 RP105 陰性 B 細胞を標的とすることにより、病的細胞に限定した、より効果的かつ安全な治療法が開発できると考えられる。

A.研究目的

種々の要因により免疫寛容が破綻すると、自己反応性 T 細胞の活性化や自己反応性 B 細胞の活性化が引き起こされる。自己反応性 B 細胞はエフェクター細胞として、自己抗体を産生し最終的に組織傷害に至る。したがって自己免疫疾患において、自己抗体産生 B 細胞は難治性病態の治療標的となると考えられる。しかし、現在のところ自己抗体産生 B 細胞を標的とした治療法は確立されていない。この方法は治療標的を病的細胞に限定しているために、正常 B 細胞には影響が少なく、より効果的かつ安全である可能性がある。

RP105 分子(CD180)は、放射線アポトーシスを回避させる抗体の抗原として発見された(図 1)。RP105 は、自然免疫系の分子である Toll like receptors の一つであり、MD-1 分子と会合し、B 細胞表面上に発現する。RP105 はグラム陰性細菌由来の LPS (lipopolysaccharide)の認識に関連し、その刺激によって B 細胞活性化や増殖がもたらされ、アポトーシスから回避させる役割を有する。

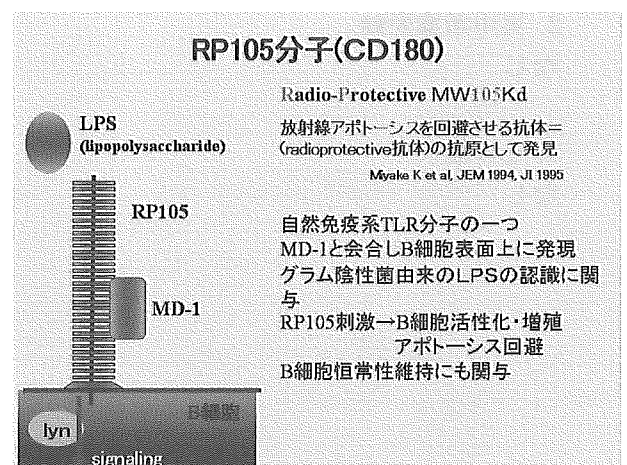


図 1

また、抗原同時認識を通じて、B 細胞恒常性維持にも関与している可能性も示唆されている(図 2)。CD40 も RP105 も単独刺激の場合には細胞増殖が起こるが、抗原刺激が同時に加わった場合は、CD40 はさらに強い細胞増殖が起こるが、RP105 は、B 細胞のアポトーシスが引き起こされる。このことは、RP105 が、過剰な抗体産生や B 細胞活性化・細胞増殖の抑制に関与し、B 細胞の恒常性

の維持に与かっている可能性を示唆する。

### RP105分子によるB細胞恒常性制御 (CD40とRP105の比較) (in mice)

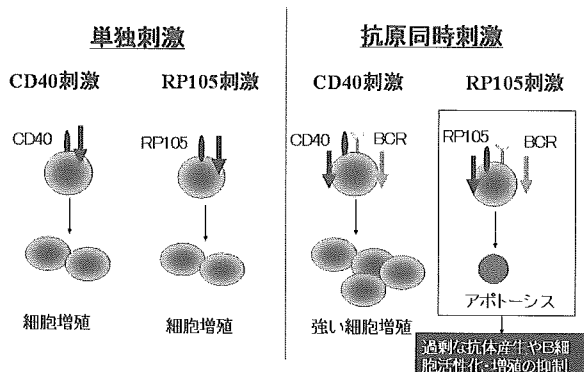


図 2

RP105 が障害された場合、B 細胞の異常活性化や自己抗体産生が引き起こされ、最終的に自己免疫疾患に繋がる可能性がある。RP105 と自己免疫疾患との関連については、マウスでの報告はなく、また、ヒトの自己免疫疾患における RP105 の解析の報告も、いままでなかったため、我々は SLE などの自己免疫疾患における B 細胞上の RP105 の発現を解析した。

### B.研究方法

全身性エリテマトーデス (SLE) 患者、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、多発性筋炎などのリウマチ性疾患患者において、RP105 および CD19 による 2 重染色を行い FACS にて解析を行った。そのさいに、SLE では各疾患において、疾患活動期と寛解期に分け RP105 に関する解析を行った。活動性 SLE 患者で、RP105 陰性 B 細胞と陽性細胞をセルソータで分離し、種々の条件で培養を行い、上清中の IgG 濃度、抗 DNA 抗体の産生を ELISA 法により解析した。皮膚筋炎患者では、気管支肺胞法洗浄液の CD19 および RP105 による FACS 解析を、シェーグレン症候群では、小唾液腺の免疫組織染色を RP105 および CD20 にて行った。

(倫理面への配慮) 本研究に関して佐賀大学医学部倫理委員会による承認を得ている。患者より 10-20ml 採血を行うが、安全性に問題ないと考えら

れる。患者に対して文書にて十分な説明を行い、同意書により意思の確認を行っている。個人情報についても符号匿名化し取り扱っており、遺漏の可能性はない。

### C.研究結果

#### 1. SLE

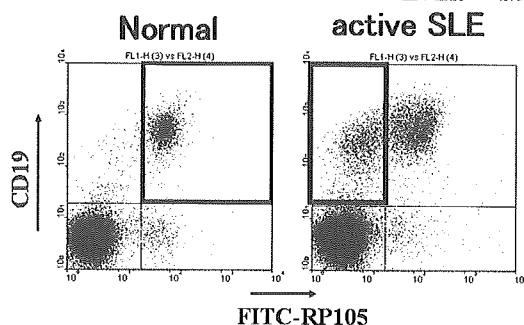
SLE は、ポリクローナルな免疫グロブリンの産生や抗 DNA 抗体、抗 Sm 抗体などの各種自己抗体の産生を伴い B 細胞機能が自己免疫病態に重要な役割を果たしていると考えられる。よって、B 細胞恒常性の制御に関わる RP105 の発現を SLE 患者において検討した。

SLE 患者(n=62)と正常コントロール(n=26)の末梢血由来の B 細胞上 RP105 の発現を解析した。新鮮血より比重遠心法により PBMC (末梢血単核細胞) を単離し、抗 RP105 抗体と抗 CD19 抗体により二重染色を行い、FACS 解析を行った。

正常では、CD19 陽性の B 細胞はほとんど全ての細胞において、RP105 が発現しているが、SLE 患者では、B 細胞中で RP105 の発現が消失した多数の RP105 陰性 B 細胞が認められた(図 3)。

### SLE患者末梢血 B 細胞上のRP105発現

新鮮血より比重遠心法でPBMCを単離し、RP105+CD19の二重染色後FACS解析



Kourouh S et al Arthritis Rheum 1999

図 3

SLE における RP105 陰性 B 細胞比率の解析を行った。SLE 患者では 15.9±11.7%と正常の 1.7±1.1%に比較して RP105 陰性 B 細胞数の有意な増加がみられた (p<0.01) (図 4)。また、疾患活動期の SLE では、非活動期に比して、RP105 陰性 B 細胞

数の増加が顕著であった ( $p < 0.001$ )。

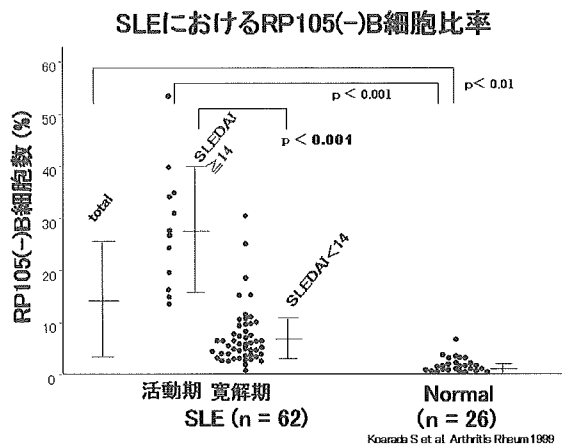


図 4

SLEの疾患活動性とRP105陰性B細胞数の相関について検討した。SLEの疾患活動性の指標としてSLE-DAIをとると、RP105陰性B細胞数と、正の相関を示した(図5)。RP105陰性B細胞数はSLEの疾患活動性をよく反映していると考えられる。

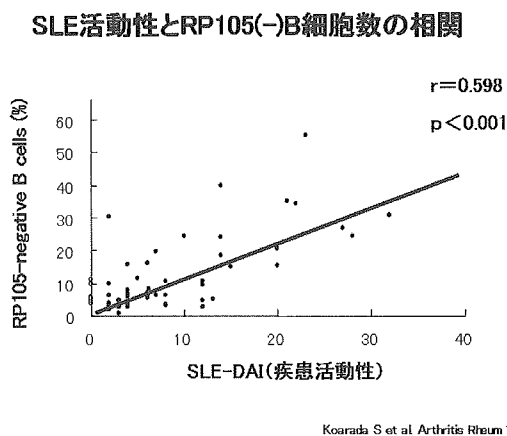


図 5

また、B細胞機能の一つである免疫グロブリン産生との関連を検討した。患者血清中のIgG濃度とRP105陰性B細胞数は正の相関を示した。

RP105陰性B細胞のフェノタイプ解析をFACSにて行った。RP105陰性B細胞は、RP105陽性B細胞(通常のB細胞)と比較して、その細胞径の増大を認め、CD95+、CD80+、CD38+であり、高

度に活性化されたB細胞であった。また、CD5は陰性であり、いわゆる自己抗体産生を行うB1細胞とは異なるサブセットを形成していると考えられた。また、RP105陰性B細胞は、細胞表面に免疫グロブリンを発現しておらず、細胞内に少量のIgMと豊富なIgGクラスの免疫グロブリンの産生を認め、免疫グロブリンを産生するエフェクター細胞であると考えられる。その他のフェノタイプとしては、CD20(-)、CD27(+)、CD138(dull)という特徴がみられ、B細胞分化の後期のフェノタイプを示していた。

ステロイド治療による初発SLEにおけるRP105陰性B細胞数の経時的変化について検討した。治療前には活動性SLE患者では全ての患者でRP105陰性B細胞数の増加がみられたが、ステロイド治療後、1ヶ月目には速やかなRP105陰性細胞数の正常化がみられた。RP105陰性B細胞はステロイド治療により減少するものと考えられた。そこで、RP105陰性B細胞のステロイドによるアポトーシス感受性を検討した。B細胞をデキサメサゾン存在下(100nM)で12時間培養後、Annexin-Vで染色し、CD19の発現細胞をsortingした後に、FACS解析した。RP105陽性B細胞はデキサメサゾン存在下(4.5%)と非存在下(5.0%)で、そのアポトーシス細胞比率は同等であったが、RP105陰性B細胞はデキサメサゾン存在下(22.7%)で、アポトーシス細胞の比率がデキサメサゾン非存在下(12.5%)の2倍近くに増加していた。RP105陰性B細胞はステロイドによるアポトーシス感受性が亢進していると考えられた。

RP105陰性B細胞のIgG抗体産生能を検討した。cell sorterを用いて、RP105陰性B細胞、RP105陽性B細胞画分を分離し、in vitroで各種条件で刺激培養後に、上清中のIgG抗体産生をELISA法にて解析した。RP105陰性B細胞は、無刺激の状態でもIgGを産生するが、SAC刺激、IL-6刺激によりさらにIgGの産生の増加がみられた。また、抗IL-6抗体により、IgGの産生は抑制された。

つぎに、RP105陰性B細胞によるIgGクラスの抗DNA抗体の産生をELISAにて検討した。RP105



陰性 B 細胞は、抗 ssDNA 抗体と抗 dsDNA 抗体の産生を行っていた。このことから、RP105 陰性 B 細胞は、SLE における自己抗体産生 B 細胞であることが示された(図 6)。

**RP105陰性B細胞によるIgGクラス抗DNA抗体産生能**

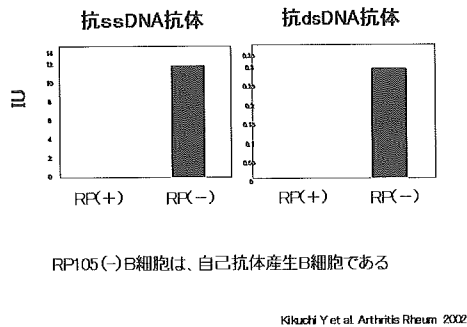


図 6

このことから、RP105 陰性 B 細胞は、CD20(-), CD38(+++), CD138(dull), surface Ig(-), intracellular Ig(+)の自己抗体を産生する B 細胞であると定義される。RP105 陰性 B 細胞は、B 細胞分化において、メモリー B 細胞から形質細胞にいたる過程の後期 B 細胞のサブセットの一つであると考えられる。しかしながら、RP105 陰性 B 細胞と完全に合致する細胞サブセットはなく新たなサブセットを形成していると考えられる。

**2. 皮膚筋炎・多発性筋炎**

つぎに、皮膚筋炎と多発性筋炎における RP105 の意義を検討した。皮膚筋炎と多発性筋炎は、皮膚症状を除くとほぼ同一の疾患として取り扱われることが多いが、皮膚筋炎では液性免疫の亢進、多発性筋炎では細胞性免疫の亢進がみられ、両者は免疫学的に異なっていると考えられる。また、皮膚筋炎における間質性肺炎は予後が極めて不良であり、臨床上也問題となっており、その病態解明と新たな治療が必要となっている。

まず、皮膚筋炎と多発性筋炎における RP105 陰性 B 細胞の FACS による解析を行った。皮膚筋炎の患者の末梢血では RP105 陰性 B 細胞数の増加が

みられたが、多発性筋炎ではみられなかった。皮膚筋炎・多発性筋炎における RP105 陰性 B 細胞比率の比較を行った。皮膚筋炎では、全ての患者において RP105 陰性 B 細胞の増加(平均 31.2%)がみられたが、多発性筋炎ではみられなかった ( $p < 0.05$ )(図 7)。

**PM/DMIにおけるRP105(-)細胞比率の比較**

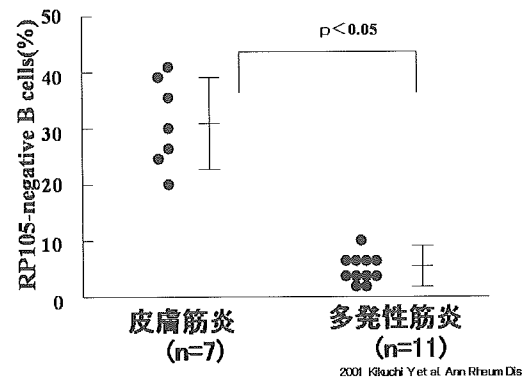


図 7

皮膚筋炎の患者の間質性肺炎における RP105 陰性 B 細胞の検討を行った(図 8)。末梢血でも RP105 陰性 B 細胞数は 31.2%と増加していたが、炎症局所である肺から得た肺胞洗浄液(BALF)中の B 細胞はほとんど(82.0%)が RP105 陰性 B 細胞であった。炎症局所への RP105 陰性 B 細胞の集積と炎症への関与が示唆された。

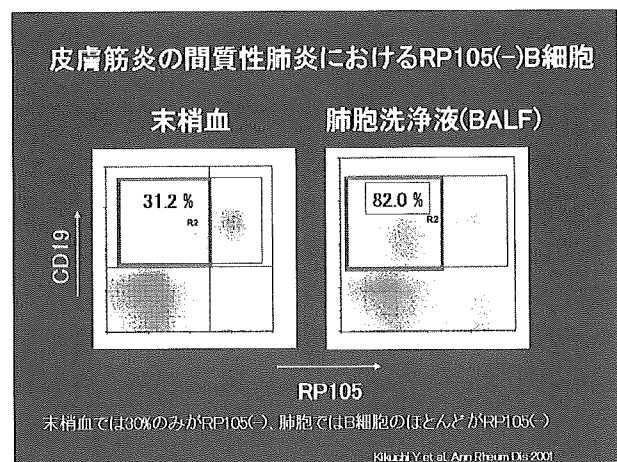


図 8

### 3. シェーグレン症候群

最後に、一次性シェーグレン症候群における RP105 陰性 B 細胞の解析を行った。シェーグレン症候群は、免疫学的特徴として、高ガンマグロブリン血症やポリクロナールな B 細胞機能の亢進がみられ、抗 SS-A 抗体や抗 SS-B 抗体などの自己抗体を産生する。また、悪性リンパ腫の発生が臨床で問題となることがある。

シェーグレン症候群では、SLE や皮膚筋炎同様に FACS 解析にて RP105 陰性 B 細胞数の増加が示された。多数例での解析の結果では、シェーグレン症候群の患者 (16.0±12.1%) ではばらつきがみられるものの、正常(3.1±3.1%)と比較して、シェーグレン症候群で有意な RP105 陰性 B 細胞の増加がみとめられた (p<0.01) (図 9)。

シェーグレン症候群患者での RP105 陰性 B 細胞数

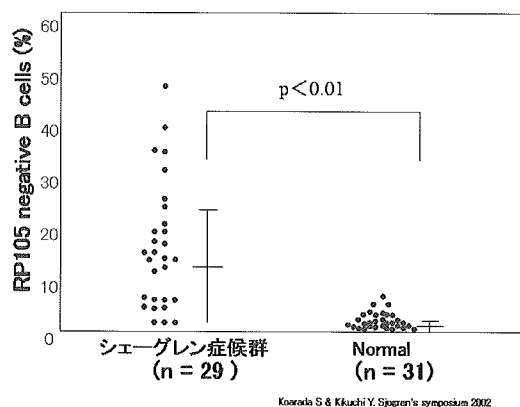


図 9

シェーグレン症候群の小唾液腺免疫組織染色では、唾液腺組織に浸潤した B 細胞のほとんどが RP105 陰性であった。シェーグレン症候群の唾液腺組織において B 細胞が胚中心を形成する場合があるが、その免疫組織染色像では胚中心を形成した部分の中心にある B 細胞も RP105 が陰性となっていた (図 10)。

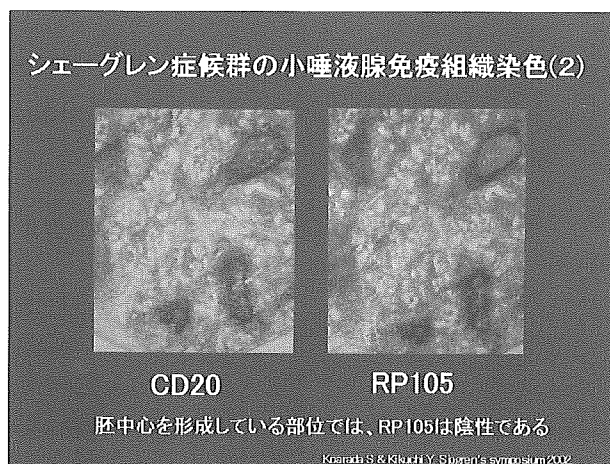


図 10

シェーグレン症候群における小唾液腺組織の RP105 陰性 B 細胞と免疫学的特徴の関連を検討した。免疫グロブリンの産生と組織での RP105 陰性 B 細胞比率の相関はなかったが、抗 SS-B 抗体が陽性の患者において RP105 陰性 B 細胞数が多い傾向がみられた(表 1)。末梢血と唾液腺組織での RP105 陰性 B 細胞の比率の比較を行った。末梢血では 14.5%のみが RP105 が陰性であったが、唾液腺組織では、56.7%が RP105 陰性であった。末梢から炎症局所への RP105 陰性 B 細胞の集積が示唆された。

表 1

シェーグレン症候群における RP105 陰性 B 細胞と免疫学的特徴

Pt	Age	Sex	IgG (mg/dl)	Anti-SS-A	Anti-SS-B	胚中心形成	組織における RP105(-) B cell (%)
1	53	F	3210	+	-	-	20.5
2	48	F	3519	-	-	+	24.7
3	28	F	3467	+	+	-	37.5
4	17	F	4337	+	-	-	43.8
5	75	F	2211	+	-	-	47.3
6	48	F	2401	-	-	+	61.2
7	60	F	1880	+	+	-	75.2
8	45	F	4030	+	+	-	100
9	22	F	3528	+	+	-	100

2002 Koorada S & Kikuchi Y. Sjogren's symposium

### D. 考察

RP105 陰性 B 細胞については以下の 3 つの可能

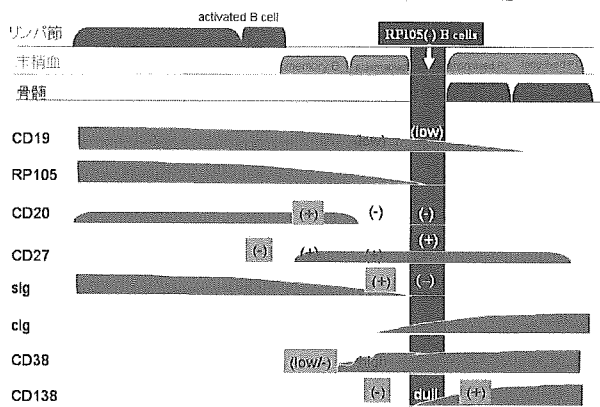
性が考えられる。(1) B 細胞分化後期の胚中心 B 細胞・メモリーB 細胞～形質細胞の中間段階の未定義の細胞群の可能性もある(表2)(図11)。すなわち、RP105 陰性 B 細胞は、CD138 (dull) であり、CD138(+)の形質細胞とは異なる細胞群である。また、細胞表面上に免疫グロブリンの発現はなく、形質芽細胞が細胞表面に免疫グロブリンを有している点から表現系が異なっている。さらには、CD20(-)やCD27(+)の点で、メモリーB 細胞や胚中心 B 細胞と異なっている。(2) また、まったく通常のB 細胞とは由来の異なるB 細胞群である可能性もある。(3) さらには、SLE などの病的状態でのみ出現する自己抗体産生B 細胞そのもの、あるいは、その前駆細胞である可能性も否定できない。

表 2

RP105陰性B細胞の特徴

	RP105 (+)	(-)
細胞径	small size	large size
CD19	(++)	(+)
CD20	(+)	(-)
CD27	(-)	(+)
CD80	(-)	(-)
CD86	(-)	(+)
CD38	(+)	(+++)
CD95 (Fas)	(-)	(+)
CD5	(-~+)	(-)
CD138	(-)	dull
細胞表面Ig(IgD,IgM,IgA)	(+)	(-)
細胞内抗体(IgG)	(-)	(+)
IgG,IgM産生能	(-)	(+)
自己抗体産生(抗DNA抗体)	(-)	(+)
IL-6による抗体産生制御	(+)	(++)
ステロイド誘導アポトーシス	(+)	(+++)

RP105(-)B細胞のB細胞分化における位置づけ



SLE における RP105 の意義は、(1) 正常では

RP105 陰性 B 細胞は存在しないが、SLE で出現し、疾患活動性やB 細胞機能(免疫グロブリンの産生)とよく相関する。(2) RP105 陰性 B 細胞は、活性化 B 細胞のフェノタイプを示す。分化段階としては形質芽細胞から形質細胞に近い細胞サブセットであるが、そのフェノタイプはいずれの分類にも属さず、新たなサブセットを形成していると考えられる。(3) RP105 陰性 B 細胞は IL-6 に制御された抗体産生を行う。(4) RP105 陰性 B 細胞は、抗 DNA 抗体を産生する。RP105 陰性 B 細胞が自己抗体産生細胞として病因へ関与していると考えられる。したがって、SLE 治療の標的として意義があると考えられる。

皮膚筋炎・多発性筋炎における RP105 の意義については、皮膚筋炎で RP105 陰性 B 細胞が増加するが、多発性筋炎では正常である。皮膚筋炎の間質性肺炎の浸潤 B 細胞は RP105 が陰性であり、局所炎症との関連が示唆される。皮膚筋炎と多発性筋炎は RP105 の発現が異なり、免疫学的に異なる病態生理が示唆される。皮膚筋炎の難治性肺病変に対する治療標的として RP105 陰性 B 細胞が有用である可能性がある。

シェーグレン症候群では B 細胞活性化を反映して末梢血 RP105 陰性 B 細胞が増加していた。シェーグレン症候群の組織浸潤 B 細胞は RP105 陰性の細胞が多く、末梢血の比率より高かった。末梢血から病変部位、とくに胚中心への集積がみられ、局所炎症との関連が示唆された。抗SS-B抗体陽性患者で唾液腺組織の RP105 陰性 B 細胞の比率が高く、免疫学的指標と RP105 陰性 B 細胞の局所集積性の関連も示唆された。RP105 陰性 B 細胞の除去は、シェーグレン症候群における唾液腺や臓器病変の炎症・組織破壊や悪性リンパ腫への進展に対する予防的治療となる可能性がある。

自己免疫疾患における RP105 陰性 B 細胞の役割についてまとめると、

1. RP105 陰性 B 細胞は、B 細胞機能異常を伴う自己免疫疾患の疾患活動性や臨床像とよく相関する。
2. RP105 陰性 B 細胞は、自己抗体産生細胞であ

り、自己免疫疾患の病態の形成に関与する。

3. 同細胞を標的とした自己免疫性疾患の治療法が考えられる。今後、SLE重症例、皮膚筋炎の間質性肺炎、シェーグレン症候群の臓器病変・悪性リンパ腫等の難治性病態に対する臨床応用への検討が必要である。

自己抗体産生RP105陰性B細胞の制御の戦略であるが、RP105陰性B細胞自体の除去や、RP105陰性B細胞の分化や増殖に関与している液性因子や共刺激分子などの関連因子の制御により、自己反応性B細胞のクローン拡大を阻止し、自己抗体の産生を抑制する方法が考えられる(図12)。

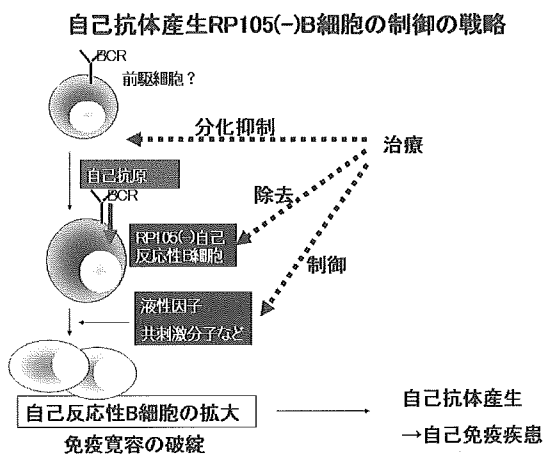


図12

RP105陰性B細胞を制御する第一の方法として、RP105陰性B細胞の除去が挙げられる。このためには、まず、RP105陰性B細胞上に特異的に発現する抗原を同定する必要がある。そのために、SLE患者よりセルソーターを用いRP105陰性および陽性B細胞を分離する。Mrnaを抽出したのちに、DNAマイクロアレイ解析を行う。RP105(-)および(+ )B細胞の遺伝子発現を比較しRP105陰性B細胞に特異的に発現する抗原を同定する。同定された抗原に対して、特異的抗体を作成する。in vitro解析においてRP105陰性B細胞の特異的除去能を検討した後、実験動物によるin vivo解析を経て、最終的なヒトへの臨床応用を目指している。

もう一つの治療戦略として、RP105陰性B細胞

クローン拡大の制御がある。このためには、まずRP105陰性B細胞の由来と分化過程、出現機序、維持機構の解明が必要である。すなわち、RP105陰性B細胞の拡大をきたすような要因としてサイトカイン、共刺激分子、感染因子、細胞因子、遺伝的素因などの解析が必要であると考えられる。これらの解析結果に基づいて、RP105陰性B細胞のクローン拡大を阻止する条件・抗体等のin vitro解析を行い、in vivo実験動物解析を経て、ヒトへの臨床応用を図っていく。

RP105陰性B細胞特異的治療法の有する可能性についてであるが、自己反応性B細胞の除去・制御により、自己抗体産生が抑制され、さらには、自己免疫病態が制御される可能性があり、自己免疫疾患の治療に繋がると思われる。RP105陰性B細胞を標的とした新規治療開発上の利点として、治療標的のスペクトラムが狭い特異的治療であり、既存の治療法とは異なる臨床効果を有する可能性がある。また、正常B細胞に対する影響は少なく、免疫抑制がかかりにくいと思われる。したがって、安全性や副作用の面で優れている可能性が考えられる。しかしながら、ヒトにおけるRP105陰性B細胞には、未知の部分が多く、臨床応用に向けて今後も精力的な研究が必要である。

## E. 結論

自己抗体産生RP105陰性B細胞を標的とすることにより、病的細胞に限定した、より効果的かつ安全な治療法が開発できると考えられる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Koarada S, Haruta Y, Mitamura M, Tada Y, Morito F, Ohta A, Nagasawa K. Ex Vivo CD4+ T Cell Cytokine Expression from Patients with Sjögren's Syndrome Following In Vitro Stimulation to Induce Proliferation. Rheumatology(Oxford). (in press)

2) Koarada S, Ide M, Haruta Y, Tada Y, Ushiyama O, Morito F, Ohta A, Nagasawa K. Two cases of antinuclear antibody negative lupus showing increased proportion of RP105-lacking B cells. J Rheumtol. 32(3): 562-4, 2005

3) Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Horiuchi T, Tsukamoto H, Murai K, Ueda A, Yoshizawa S, Ohta A. Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: prospective study by MRI. Lupus. 14(4): 385-90, 2005

1. 2. 学会発表

1) 春田善男, 小荒田秀一, 多田芳史, 三田村未央, 大田明英, 長澤浩平. 膠原病における樹上細胞上の Toll like receptors 発現の検討. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 Page257(2005.04)

2) 多田芳史, 小荒田秀一, 春田善男, 三田村未央, 大田明英, 長澤浩平. MRL/lpr マウスの病態発現における inducible costimulator(ICOS)の役割. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 Page283(2005.04)

3) 春田善男, 小荒田秀一, 多田芳史, 三田村未央, 福岡麻美, 林真一郎, 長澤浩平. 感染症症例における,樹状細胞上 TLR2,TLR4,RP105 発現の検討.感染症学雑誌(0387-5911)79 巻3号 Page222(2005.03)

2. H.知的所有権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
3. なし
4. 2. 実用新案登録
5. なし
6. 3. その他
7. なし

#### (4) 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
Yasuda,S.,Atsumi,T.,Matsuura,E., Kaiharu.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(1)	212-218	2005
Kataoka,H.,Takahashi,S.,Takase,K., Yamasaki,S.,Yokosuka,T.,Koike,T., Saito,T.	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells exert in vitro suppressive activity independent of CTLA-4.	Int Immunol	17(4)	421-427	2005
Jodo,S.,Pidiyar,VJ.,Xiao,S.,Furusaki,A., Sharma,R.,Koike,T.,Ju,ST	Cutting Edge: Fas Ligand (CD178) Cytoplasmic Tail Is a Positive Regulator of Fas Ligand-Mediated Cytotoxicity. J	Immunol	174(8)	4470-4474	2005
Nishio,S.,Hatano,M.,Nagata,M., Horie,S.,Koike,T.,Tokuhisa,T., Mochizuki,T	Pkd1 regulates immortalized proliferation of renal tubular epithelial cells through p53 induction and JNK activation.	J Clin Invest	115(4)	910-918	2005
Kochi,Y.,Yamada,R.,Suzuki,A.,Harley,JB Shirasawa,S.,Sawada,T.,Bae,SC., Tokuhiro,S.,Chang,X.,Sekine,A., Takahashi,A.,Tsunoda,T., Ohnishi,Y.,Kaufman,KM., Kang,CP.,Kang,C.,Otsubo,S., Yumura,W.,Mimori,A.,Koike,T., Nakamura,Y.,Sasazuki,T., Yamamoto,K.	A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities.	Nat Genet	37(5)	478-485	2005
Imai,Y.,Chou,T.,Tobinai,K., Tanosaki,R.,Morishima,Y.,Ogura,M., Shimazaki,C.,Taniwaki,M.,Hiraoka,A., Tanimoto,M.,Koike,T., Kogawa,K.,Hirai,H.,Yoshida,T.,Tamura, K.,Kishi,K., Horita,T	CliniMACS Study Group. Isolation and transplantation of highly purified autologous peripheral CD34+ progenitor cells: purging efficacy, hematopoietic reconstitution in non-Hodgkin's lymphoma (NHL): results of Japanese phase II study.	Bone Marrow Transpl	35(5)	479-487	2005
Bando,H.,Atsumi,T.,Nishio,T.,Niwa,H., Mishima,S.,Shimizu,C.,Yoshioka,N.,nBu cala,R., Koike,T.	Phosphorylation of the 6-phosphofructo-2-kinase/fructose 2,6-bisphosphatase/PFKFB3 family of glycolytic regulators in human cancer.	Clin Cancer Res	11	5784-5792	2005
Atsumi,T.,Furukawa,S.,Amengual,O., Koike,T.	Antiphospholipid antibody associated thrombocytopenia and the paradoxical risk of thrombosis	Lupus	14	499-504	2005
Bohgaki,T., Amasaki,Y., Nishimura,N., Bohgaki,M., Yamashita,Y., Nishio,M., Sawada,KI., Jodo,S., Atsumi,T., Koike,T.	Up regulated expression of tumour necrosis factor $\alpha$ converting enzyme in peripheral monocytes of patients with early systemic sclerosis.	Ann Rheum Dis.	64	1165-1173	2005
Atsumi,T., Amengual,O., Yasuda,S., Matsuura,E., Koike,T.	Research around $\beta$ 2-glycoprotein I: A major target for antiphospholipid antibodies.	Autoimmunity	38(5)	377-381	2005
Fukae,J., Amasaki,Y., Yamashita,Y., Bohgaki,T., Yasuda,S., Jodo,S., Atsumi,T., Koike,T.	Butyrate suppresses tumor necrosis factor $\alpha$ production by regulating specific messenger RNA degradation mediated through a cis-acting AU-rich element.	Arthritis Rheum	52(9)	2697-2707	2005
Koike,T., Atsumi,T	Antiphospholipid antibodies and cell activation: crucial role of p38 MAPK pathway	Lupus	14(10)	799-801	2005
Atsumi,T.,Nishio,T.,Niwa,H.,Takeuchi,J., Bando,H.,Shimizu,C.,Yoshioka,N., Bucala,R.,Koike,T.	Expression of inducible 6-Phosphofructo-2-Kinase/Fructose-2,6-Bisphosphatase/PFKFB3 isoforms in adipocytes and their potential role in glycolytic regulation.	Diabetes	54(12)	3349-3357	2005
Kasahara,H.,Matsuura,E.,Kaiharu,K., Yamamoto,D.,Kobayashi,K.,Inagaki,J., Ichikawa,K.,Tsutsumi,A.,Yasuda,S., Atsumi,T.,Yasuda,T.,Koike,T.	Antigenic structures recognized by anti-B2-glycoprotein I auto-antibodies	Int immunol	17(12)	1533-1542	2005
Yasuda,S.,Bohgaki,M.,Atsumi,T.,Koike,T	Pathogenesis of antiphospholipid antibodies: impairment of fibrinolysis and monocyte activation via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway	Immunobiology	210	775-780	2005
Nakabayashi,T.,Mizukami,K.,Naitoh,S., Takeda,M.,Shikamoto,Y.,Nakagawa,T., Kaneko,H.,Tarumi,T.,Mizoguchi,I., Mizuno,H.,Ieko,M.,Koike,T	Protein C Sapporo (protein C Glu 25 $\rightarrow$ Lys):A heterozygous missense mutation in the Gla domain provides new insight into the interaction between protein C and endothelial protein C receptor.	Thromb Haemost	94	942-950	2005

Goto,H.,Nishio,M.,Endo,T.,Sato,N.,Koizumi,K.,Fujimoto,K.,Sakai,T.,Kumano,K.,Obara,M.,Koike,T.	Effective in vivo purging with rituximab and autologous peripheral blood stem cell transplantation in a woman with CD5 positive primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma.	Eur J Haematol	74(6)	526-528	2005
Nakamura,A.,Simizu,C.,Nagai,S.,Taniguchi,S.,Umetsu,M.,Atsumi,T.,Yoshioka,N.,Ono,Y.,Tajima,T.,Kubo,M.,Koike,T.	A rare case of Gitelman's syndrome presenting with hypocalcemia and osteopenia.	J Endocrinol Invest	28	464-468	2005
Nishio,M.,Endo,T.,Fujimoto,K.,Sato,N.,Sakai,T.,Obara,M.,Kumano,K.,Minauchi,K.,Koike,T.	Persistent panhypogammaglobulinemia with selected loss of memory B cells and impaired isotype expression after rituximab therapy for post-transplant EBV-associated autoimmune hemolytic anemia.	Eur J Haematol.	75(6)	527-529	2005
Matsumoto,R.,Shimizu,C.,Nagai,S.,Taniguchi,S.,Umetsu,M.,Kimura,Y.,Atsumi,T.,Yoshioka,N.,Kubo,M.,Koike,T.	Cat-eye syndrome with isolated idiopathic hypogonadotropic hypogonadism.	Internal Med	44(10)	1069-1073	2005
Ieko,M.,Tarumi,T.,Nakabayashi,T.,Yoshida,M.,Naito,S.,Koike,T.	Factor Xa inhibitors: new anti-thrombotic agents and their characteristics.	Frontiers in Bioscience	11	232-248	2006
Matsumoto, M., Hatakeyama, S., Oyamada, K., Oda, Y., Nishimura, T. and Nakayama, K-i.	Large-scale analysis of the human ubiquitin-related proteome.	Proteomics	5	4145-4151	2005
Pushkarsky, T., Yurchenko, V., Vanpouille, C., Brichacek, B., Vaisman, I., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Sherry, B. and Bukrinsky M.I.	Cell surface expression of CD147/emmprin is regulated by cyclophilin 60.	J. Bio. Chem	280	27866-27871	2005
Hatakeyama, S., Watanabe, M., Fujii, Y. and Nakayama, K-i.	Targeted destruction of c-Myc by an engineered ubiquitin ligase suppresses cell transformation and tumor formation.	Cancer Res.	65	7874-7879	2005
Kaneko-Oshikawa, C., Nakagawa, T., Yamada, M., Yoshikawa, H., Matsumoto, M., Yada, M., Hatakeyama, S., Nakayama, K. and Nakayama, K-i.	Mammalian E4 is required for cardiac development and maintenance of the nervous system.	Mol. Cell. Biol.	25	10953-10964	2005
Yogosawa, S., Hatakeyama, S., Nakayama, K-i., Miyoshi, H., Kohsaka, S., and Akazawa, C.	Ubiquitylation and degradation of polo-like kinase SNK by hVPS18, a RING-H2 type ubiquitin ligase.	J. Biol. Chem.	280	41619-41627	2005
Hatakeyama, S., Matsumoto, M. and Nakayama, K-i.	Mapping of ubiquitination sites on target proteins.	Methods Enzymol.	399	277-286	2005
Makino, Y., Tsuda, M., Ichihara, S., Watanabe, T., Sawa, H., Nagashima, K., Hatakeyama, S. and Tanaka, S.	Elmo1 inhibits ubiquitylation of Dock180.	J. Cell Sci.		in press	2005
Suzuki, E., Tsutsumi, A., Goto, D., Matsumoto, I., Ito, S., Otsu, M., Onodera, M., Takahashi, S., Sato, Y., and Sumida, T.	Gene transduction of tristetraprolin or its active domain reduces TNF-a production in Jurkat T cells.	Int. J. Mol. Med.		in press	2005
Kori, Y., Matsumoto, I., Zhang, H., Muraki, Y., Yasukochi, T., Hayashi, T., Iwanami, K., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A. and Sumida, T.	Characterization of Th1 type, glucose-6-phosphate isomerase reactive T cells in the generation of rheumatoid arthritis.	Ann. Rheum. Dis.		in press	2005
Chino, Y., Murata, H., Goto, D., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Sakamoto, T., Ohtsuka, M., Sekisawa, K., Ito S., and Sumida, T.	T cell receptor BV gene repertoire in lymphocytes from bronchoalveolar lavage fluid of polymyositis/dermatomyositis patients with interstitial pneumonitis.	Int. J. Mol. Med.	17	101-109	2006
Naito, Y., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T.	Altered peptide ligands regulate muscarinic acetylcholine receptor reactive T cells from patients with Sjogren's syndrome.	Ann. Rheum. Dis.	65	269-271	2006
Matsumoto, I., Hua, Z., Muraki, Y., Hayashi, T., Yasukochi, T., Kori, Y., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T.	A functional variant of Fcγ receptor IIIA is associated with rheumatoid arthritis in anti-glucose-6-phosphate isomerase antibodies positive individuals.	Arthritis Res. Ther.	7	1183-1188	2005



Matsumoto, I., Muraki, Y., Yasukochi, T., Hua, Z., Kori, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., Ikeda, K., Sumitika, H., and <u>Sumida, T.</u>	The exploration of joint specific immunoreactions on immunoglobulins G anti-glucose-6-phosphate isomerase antibodies from patients with rheumatoid arthritis.	Int. J. Mol. Med.	16	793-800	2005
Ohnishi, Y., Tsutsumi, A., Goto, D., Itoh, S., Matsumoto, I., Taniguchi, M., and <u>Sumida, T.</u>	TCRVa14+ NKT cells function as effector T cells in collagen-induced arthritis mice.	Clin. Exp. Immunol.	141	47-53	2005
Tomoo, T., Tsutsumi, A., Yasukochi, T., Ikeda, K., Ochiai, N., Ozawa, K., Shibanaka, Y., Ito, S., Matsumoto, I., Goto, D., and <u>Sumida, T.</u>	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.	15	453-457	2005
Naito, Y., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Goto, D., Tsutsumi, A., and <u>Sumida, T.</u>	Muscarinic acetylcholine receptor autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome.	Ann. Rheu. Dis.	64	510-511	2005
Takahashi, R., Tsutsumi, A., Ohtani, K., Muraki, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Wakamiya, N., and <u>Sumida, T.</u>	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
Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae SC, Tokuhiro S, Chang X, Sekine A, Takahashi A, Tsunoda T, Ohnishi Y, Kaufman KM, Kang CP, Kang C, Otsubo S, Yumura W, Mimori A, Koike T, Nakamura Y, Sasazuki T, Yamamoto K.	A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities.	Nature Genet.	37	478-485	2005
Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshino S, Tokuhiro S, Yamamoto K.	Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis.	Rheumatology.	44	40-50	2005
Kawaida R, Yamada R, Kobayashi K, Tokuhiro S, Suzuki A, Kochi Y, Chang X, Sekine A, Tsunoda T, Sawada T, Furukawa H, Nakamura Y, Yamamoto K.	CUL1, a component of E3 ubiquitin ligase, alters lymphocyte signal transduction with possible effect on rheumatoid arthritis.	Genes Immun.	6	194-202	2005
Sagawa K, Nagatani K, Komagata Y, Yamamoto K.	Angiotensin receptor blockers suppress antigen-specific T cell responses and ameliorate collagen-induced arthritis in mice.	Arthritis Rheum.	52	1920-1928	2005
Suzuki A, Yamada R, Ohtake-Yamanaka M, Okazaki Y, Sawada T, Yamamoto K.	Anti-citrullinated collagen type I antibody is a target of autoimmunity in rheumatoid arthritis.	Biochem Biophys Res Commun.	333	418-426	2005
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-gamma production from CD4 T cells.	Allergol Int	54	117-122	2005
Suzuki F, Nanki T, Imai T, Kikuchi H, Hirohata S, Kohsaka H, Miyasaka N.	Inhibition of CX3CL1 (fractalkine) improves experimental autoimmune myositis in SJL/J mice.	J Immunol	175	6987-6996	2005
Ueno, Y., S. Tanaka, M. Sumii, S. Miyake, S. Tazuma, M. Taniguchi, <u>T. Yamamura</u> and K. Chayama:	Single dose of OCH improves mucosal Th1/Th2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of V14 NKT cells in mice.	Inflamm. Bowel Disease	11(1):	35-41	2005
Hashimoto D, Asakura S, Miyake S, <u>Yamamura T</u> , van Kaer L, Liu C, Tanimoto M and Teshima T.	Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducible Th2 polarization of donor T cells.	J.Immunol.	174(1):	551-6	2005
Murata K, Toba T, Nakanishi K, Takahashi B, <u>Yamamura T</u> , Miyake S and Annoura H.	Total synthesis of an immunosuppressive glycolipid, (2S,3S,4R)-1-O- (alpha-d-galactosyl)-2- tetracosanoylamino-1,3,4-nonanetriol.	J.Org.Chem.	70(6):	2398-401,	2005
Yu KO, Im JS, Molano A, Dutrone Y, Illarionov PA, Forestier C, Fjiwara N, Arias I, Miyake S, <u>Yamamur T</u> , Chang YT, Besra GS, and Porcellli SA.	Modulation of CD1d-restricted NKT cell responses by using N-acylvariants of a-galactosylceramides.	Proc.Natl.Acad.Sci.U SA.	102(9):	3383-8,	2005
Ota T, Takeda K, Akiba H, Hayakawa Y, Ogasawara K, Ikarashi Y, Miyake S, Wakasugi H, <u>Yamamura T</u> , Kronenberg M, Raulet DH, Kinoshita K, Yagita H, Smyth MJ, Okumra K.	IFN-g-mediated negative feedback regulation of NKT cell function by CD94/NKG2.	Blood	106(1):	184-92	2005

Chiba A, Kaieda S, Oki S, Yamamura T and Miyake S.	The involvement of Va14 NKT cells in the pathogenesis of arthritis in murine models .	Arthritis Rheum.	52:00:00	Aug-41	2005
Toba T, Murata K, Yamamura T, Miyake S and Annoura H.	A concise synthesis of (3S,4S,5R)-1-( $\alpha$ -D-galactopyranosyl)-3-tetracosanoylamino-4,5-decanediol, a C-glycoside analogue of immunomodulating $\alpha$ -galactosylceramide OCH.	Tetrahedron Letters	46:00:00	Jul-43	2005
Ronet C, Darche S, de Moraes ML, Miyake S, Yamamura T, Louis JA, Kasper LH, Buzoni-Gatel D.	NKT Cells Are Critical for the Initiation of an Inflammatory Bowel Response against <i>Toxoplasma gondii</i> .	J.Immunol.	175(2):	899-908	2005
Oki S, Tomi C, Yamamura T and Miyake S.	Preferential Th2 polarization by OCH is supported by incompetent NKT cell induction of CD40L and following production inflammatory cytokines by bystander cells in vivo.	Int.Immunol	17(12):	1619-29,	2005
Miyake S and Yamamura T.	Therapeutic potential of glycolipid ligands for natural killer (NK) T cells in the suppression of autoimmune diseases.	Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.	5 (3):	315-22,	2005
Fehervari, Z., and Sakaguchi S.	CD4+ regulatory cells as a potential immunotherapy.	<i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.</i>	360	1347-1661	2005
Kuroda, N., Mitani, T., Takeda, N., Ishimaru, N., Arakaki, R., Hayashi, Y., Bando, Y., Izumi, K., Takahashi, T., Nomura, T., Sakaguchi, S., Ueno, T., Takahama, Y., Uchida, D., Sun, S., Kajjira, F., Mouri, Y., Han, H., Matsushima, A., Yamada, G., and Matsumoto, M.	Development of Autoimmunity against Transcriptionally Unrepressed Target Antigen in the Thymus of Aire-Deficient Mice.	<i>J. Immunol.</i>	174	1862-1870	2005
Matsubara, Y., Hori, T., Morita, R., Sakaguchi, S., and Uchiyama, T.	Phenotypic and functional relationship between adult T cell leukemia and regulatory T cells.	<i>Leukemia</i>	19	482-483	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.	<i>J. Immunol.</i>	174	1783-1786	2005
Sakaguchi, S	Naturally arising <i>Foxp3</i> -expressing CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self.	<i>Nature Immunol.</i>	6	345-352	2005
Ko, K., Yamazaki, S., Nakamura, K., Nishioka, T., Hirota, K., Yamaguchi, T., Shimizu, J., Nomura, T., Chiba, T., and Sakaguchi, S.	Treatment of advanced tumors with agonistic anti-GITR mAb and its effects on tumor-infiltrating Foxp3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells.	<i>J. Exp. Med.</i>	2002	885-891	2005
Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S.	Homeostatic maintenance of natural Foxp3 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization	<i>J. Exp. Med.</i>	201	723-735	2005
Yoshitomi, H., Sakaguchi, N., Brown, G., Tagami, T., Sakihama, T., Nomura, T., Akira, S., Gordon, S., Nakamura, T., and Sakaguchi, S.	A role for fungal $\beta$ -glucans and their receptor Dectin-1 in the induction of autoimmune arthritis in genetically susceptible mice	<i>J. Exp. Med.</i>	201	949-960	2005
Nishikawa, H., Kato, T., Tawara, I., Saito, K., Ikeda, H., Kuribayashi, K., Allen, P. M., Schreiber, R. D., Sakaguchi, S.	Definition of target antigens for naturally occurring CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> regulatory T cells	<i>J. Exp. Med.</i>	201	681-686	2005
Bach, J. F., and Sakaguchi, S.	Autoimmunity.	<i>Curr Opin Immunol.</i>	17	567-569	2005
Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N.	Animal models of arthritis caused by systemic alteration of the immune system.	<i>Curr Opin Immunol.</i>	17	589-594	2005
Nagahama, K., Nishimura, E., and Sakaguchi, S.	Induction of tolerance by adoptive transfer of regulatory T cells. In "Immunological Tolerance: Methods and Protocols". Ed. Paul J. Fairchild.	Humana Press.		In press.	2005
Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Hata, H., Takahashi, T., and Nomura, T.	T. Spontaneous development of autoimmune arthritis due to genetic anomaly of T cell signal transduction.	<i>Seminars in Immunology.</i>		In press.	2005
Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S.	Regulatory T cells in immune surveillance and treatment of cancer.	<i>Seminar in Cancer Biology</i>		In press.	2005
Yoshizawa, A., Ito, A., Li, Y., Koshiba, T., Sakaguchi, S., Wood, K. J., and Tanaka, K.	The roles of CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells in operational tolerance after living donor liver transplantation.	<i>Transplant. Proc.</i>	37	37-39	2005

Sakaguchi, S., Takahashi, T., Hata, H., Yoshitomi, H., Tanaka, S., Hirota, K., Nomura, T. and Sakaguchi, N.	SKG mice, a monogenic model of autoimmune arthritis due to altered signal transduction in T cells.	<i>Progress in Inflammation Research.</i>	In press.		2005
Sakaguchi, S., Setoguchi, R., Yagi, H., and Nomura, T.	Naturally arising Foxp3-expressing CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease	<i>Curr Top Microbiol Immunol.</i>	In press.		2005
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.	Regulatory T cells, derived from naive CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>-</sup> T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance.	<i>Transplantation.</i>	79	1310-1316	2005
Quezada SA, Bennett K, Blazar BR, Rudensky AY, Sakaguchi S, Noelle RJ	Analysis of the underlying cellular mechanisms of anti-CD154-induced graft tolerance: the interplay of clonal anergy and immune regulation.	<i>J. Immunol.</i>	175	771-779	2005
Sakaguchi, S. Preface	Regulatory T cells in autoimmune diseases.	<i>Int. Rev. Immunol.</i>	24	157-158	2005
Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N.	Regulatory T cells in immunologic self-tolerance and autoimmune diseases.	<i>Int. Rev. Immunol.</i>	24	211-226	2005
Fehervari, Z., and Sakaguchi S.	CD4 <sup>+</sup> regulatory cells as a potential immunotherapy.	<i>Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.</i>	360	1347-1661	2005
Kuroda, N., Mitani, T., Takeda, N., Ishimaru, N., Arakaki, R., Hayashi, Y., Bando, Y., Izumi, K., Takahashi, T., Nomura, T., Sakaguchi, S., Ueno, T., Takahama, Y., Uchida, D., Sun, S., Kajiuira, F., Mouri, Y., Han, H., Matsushima, A., Yamada, G., and Matsumoto, M.	Development of Autoimmunity against Transcriptionally Unrepressed Target Antigen in the Thymus of Aire-Deficient Mice.	<i>J. Immunol.</i>	174	1862-1870	2005
Matsubara, Y., Hori, T., Morita, R., Sakaguchi, S., and Uchiyama, T.	Phenotypic and functional relationship between adult T cell leukemia and regulatory T cells.	<i>Leukemia</i>	19	482-483	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.	<i>J. Immunol.</i>	174	1783-1786	2005
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.	<i>Rheumatology</i>	44	176-182	2005
Tanaka Y, Tokunaga M.	Rituximab reduces both quantity and quality of B cells in SLE.	<i>Rheumatology</i>	45	122-123	2006
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.	<i>Arthritis Rheum</i>	52	1676-1683	2005
Saito K, Nawata M, Iwata S, Tokunaga M, Tanaka Y.	Extremely high titre of antihuman chimeric antibody following re-treatment with rituximab in a patient with active systemic lupus erythematosus.	<i>Rheumatology</i>	44	1462-1464	2005
Nakayamada S, Kurose K, Saito K, Mogami A, Tanaka Y.	Small GTP-binding protein rho-mediated signaling promotes proliferation of rheumatoid synovial fibroblasts.	<i>Arthritis Res Ther</i>	7	476-484	2005
Sobue T, Naganawa T, Xiao L, Okada Y, Tanaka Y, Ito M, Okimoto N, Nakamura T, Coffin JD, Hurley MM.	Over-expression of fibroblast growth factor-2 causes defective bone mineralization and osteopenia in transgenic mice.	<i>J Cell Biochem</i>	95	83-94	2005
Sakuma-Zenke M, Sakai A, Nakayamada S, Kunugita N, Uchida S, Tanaka S, Mori T, Tanaka Y, T Nakamura.	Reduced expression of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 in bone marrow cells in mice after unloading.	<i>J Bone Miner Res</i>	20	1002-1010	2005
Higashi T, Tsukada J, Yoshida Y, Mizobe T, Mouri F, Minami Y, Morimoto H, Tanaka Y.	Constitutive tyrosine and serine phosphorylation of STAT4 in T-cells transformed with HTLV-I.	<i>Genes Cells</i>	10	1153-1162	2005
Kishikawa H, Mine S, Kawahara C, Tabata T, Hirose a, Okada Y, Tanaka Y.	Glycated albumin and cross-linking of CD44 induce scavenger receptor 3 expression and uptake of oxidized LDL in human monocytes.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	339	846-851	2006
Tanaka Y, Nakayamada S, Okada Y.	Osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling and inflammation	<i>Curr Drug Targets Inflamm Allergy</i>	4	325-328	2005

Morimoto H, Tsukada J, Kominato Y, Tanaka Y.	Reduced expression of human mismatch repair genes in adult T-cell leukemia.	Am J Hematol	78	100-107	2005
Fujii Y, Fujii K, Tanaka Y.	Attempt to correct abnormal signal transduction in T lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients	Autoimmunity Rev	5	143-144	2006
Tsujimura S, Saito K, Tokunaga M, Nakatsuka K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y.	Overcoming treatment unresponsiveness mediated by P-glycoprotein overexpression on lymphocytes in refractory active systemic lupus erythematosus.	Mod Rheumatol	15	28-32	2005
Soen S, Tanaka Y.	Glucocorticoid-induced Osteoporosis - Skeletal Manifestation of Glucocorticoid and 2004 Japan Society for Bone and Mineral Research-Proposed Guideline for Its Management –	Mod Rheumatol	15	163-168	2005
Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Tanaka Y.	Human urinary trypsin inhibitor bolus infusion improved severe interstitial pneumonia in mixed connective tissue disease	Mod Rheumatol	15	374-380	2005
Tanaka Y, Okada Y.	Acro-osteolysis and symphalangism mutations.	J Bone Miner Res	20	160	2005
Mitoma,H., Horiuchi,T., Hatta,N., Tsukamoto,H., Harashima,S., Kikuchi,Y., Otsuka,J., Okamura,S., Fujita S., Harada,M.	Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF- $\alpha$ .	Gastroenterology	128	376-392	2005
Okamura,J., Utsunomiya,A., Tanosaki,R., Uike,N., Sonoda.S., Kannagi.M., Tomonaga.M., Harada.M., Kimura,N., Masuda,M., Kawano,F., Yufu,Y., Hattori,H., Kikuchi,H., Saburi,Y.	Allogeneic stem-cell transplantation with reduced conditioning T-cell leukemia/lymphoma.	Blood	105	4143-4145	2005
Ishikawa,F., Yasukawa,M., Lyons,B., Yoshida,S., Miyamoto,T., Yoshimoto,G., Watanabe,T., Akashi,K., Shultz,LD., Harada,M.	Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor $\gamma$ chain <sup>null</sup> mice.	Blood	106	1565 - 1573	2005
Numata,A., Shiomoda,K., Kamezaki,K., Haro,T., Kakumitsu,H., Shide,K., Kato,K., Miyamoto,T., Yamashita,Y., Oshima,Y., Nakajima,H., Iwama,A., Aoki,K., Takase,K., Gondo,H., Mano,H., Harada,M.	Signal transducers and activators of transcription 3 augments the transcriptional activity of CCAAT/Enhancer-binding protein $\alpha$ in granulocyte colony-stimulating factor signaling pathway.	J Biol Chem	280	12621-12629	2005
Kawano,N., Ishikawa,F., Shimoda,K., Yasukawa,M., Nagafuji,K., Miyamoto,T., Baba,E., Tanaka,T., Yamasaki,S., Gondo,H., Otsuka,T., Ohsima,K., Shultz,LD., Akashi,K., Harada,M.	Efficient engraftment of primary adult T-cell leukemia cells in newborn NOD/SCID/ $\beta$ 2-microglobulin <sup>null</sup> mice.	Leukemia	19	1384-1390	2005
Imamura,R., Miyamoto,T., Yoshimoto,G., Kamezaki,K., Ishikawa,F., Henzan,H., Kato,K., Takase,K., Numata,A., Nagafuji,K., Okamura,T., Sata,M., Harada,M., Inaba,S.	Mobilization of human lymphoid progenitors after treatment with granulocyte colony-stimulating factor.	J Immunol	175	2647-2654.	2005
Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Miyamoto T, Aoki K, Takase K, Henzan H, Himeji D, Koyoma T, Miyake K, Inoue Y, Nakashima H, Otsuka T, Tanaka Y, Nagasawa K, Harada M	A phase I - II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease.	Ann Rheum Dis		In press.	2005
Koarada S, Haruta Y, Mitamura M, Tada Y, Morito F, Ohta A, Nagasawa K	Ex Vivo CD4+ T Cell Cytokine Expression from Patients with Sjögren's Syndrome Following In Vitro Stimulation to Induce Proliferation	Rheumatology (Oxford)		In press.	2005
Koarada S, Ide M, Haruta Y, Tada Y, Ushiyama O, Morito F, Ohta A, Nagasawa K.	Two cases of antinuclear antibody negative lupus showing increased proportion of RP105-lacking B cells.	J Rheumtol	32(3)	562-4,	2005
Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Horiuchi T, Tsukamoto H, Murai K, Ueda A, Yoshizawa S, Ohta A	Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: prospective study by MRI.	Lupus	14(4)	385-90	2005