

図1 MR1遺伝子導入細胞による $V\alpha 19$ NKT細胞の活性化

A:メラノーマ株MEB4およびその $\beta$ -GlcCer synthase欠損株GM95のMR1遺伝子導入細胞のMR1発現をFACSにより分析した。

B: $V\alpha 19Tg$ マウス肝臓リンパ球をレスポンドーとし、MR1遺伝子導入細胞と共培養して免疫応答を上清のIL-4, IFN- $\gamma$ の濃度から評価した。対照としてC57BL/6肝臓リンパ球細胞を同様に調べた。

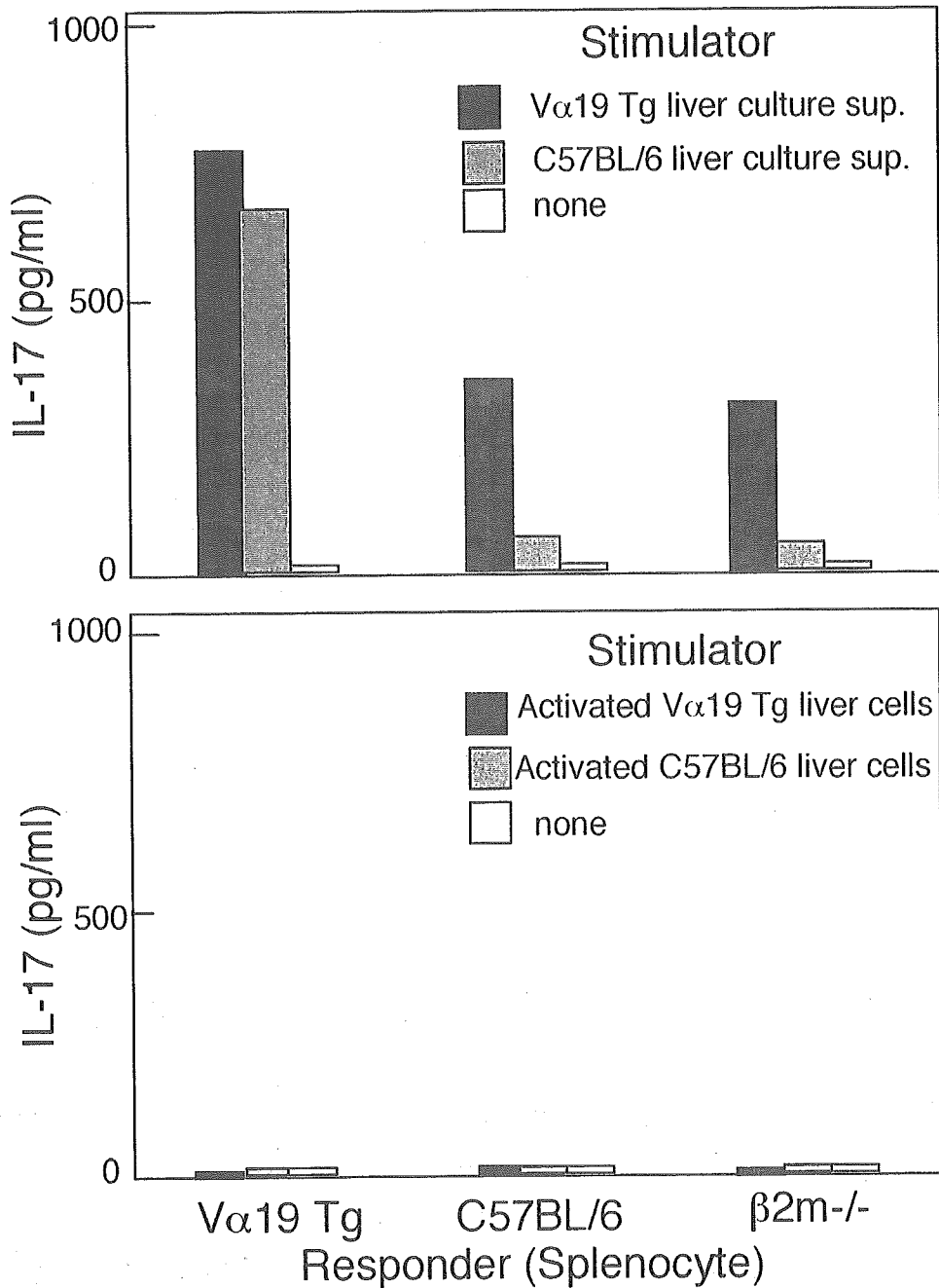


図2 抗原活性化Vα19NKT細胞分泌因子によるIL-17産生増強  
 Vα19 TgおよびC57BL/6マウス肝臓単核球を予め抗-CD3抗体をコートした培養プレート上で1日培養した。培養上清と細胞に分画し、別に調製したVα19 Tg, C57BL/6あるいはβ2m-/-マウス脾臓単核球に加え、2日間培養した。上清のIL-17濃度はELISA法で定量した。Stimulatorとして加えた肝臓細胞培養上清、および肝臓細胞を単独で培養した上清中のIL-17の濃度はいずれも35 pg/ml以下だった。

分担研究報告書

ドーパミン脱入力による神経炎症の亢進

分担研究者 秋山治彦 東京都精神医学総合研究所 参事研究員

研究要旨 ラット内側前脳束への 6-OHDA 注入による線状体ドーパミン(DA)脱入力は、その慢性期において、腹腔内 LPS 投与に伴う c-Fos 発現やミクログリア活性化を促進した。脳において DA 系神経支配は免疫・炎症反応を抑制する機能も併せて担っており、その機能低下は、炎症性神経疾患の増悪、および身体炎症の脳実質への波及の促進を招く可能性が高い。

A. 研究目的

近年、神経変性疾患や脳血管障害を含む多数の神経疾患の病理プロセスに炎症反応が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。従来、脳は血液脳関門によって末梢の免疫系から隔離され、免疫炎症反応が生じにくい特権的な部位であると考えられていた。しかし実際には、脳自体が自然免疫系に属する多様な要素を有しており、また同時に、脳実質と血液との間には血液脳関門を介した多様な情報伝達や物質の移動があって、それらが動的に制御されている。脳では確かに免疫・炎症反応は起こりにくい、それは従来考えられていた“末梢の免疫系からの隔離”よりも、むしろ脳の細胞が免疫系を抑制する因子を発現して抗免疫・抗炎症性の微小環境を維持していることによる。ヒト剖検脳を用いたこれまでの本研究で、様々な神経疾患の脳病変において生じている炎症反応は、それ自体が神経細胞を障害しうるだけでなく、身体疾患に伴う全身炎症を合併した際の脳実質への影響に対して、脳の脆弱性を高めることが示唆された。そこで本年度は、脳の免疫抑制性機構と脳病変の炎症反応、全身炎症との関係を実験的に検討した。

B. 研究方法

ラット脳に炎症性モデル脳病変を導入し、グリア細胞と神経細胞の変化を免疫

組織科学的に検討した。全身炎症モデルとして LPS の腹腔内投与、髄膜炎モデルとして LPS の大槽内投与、また一側のカテコラミン(CA)系神経支配を低下させて炎症性脳病変の左右差を検討するために、内側前脳束への 6-hydroxydopamine(OHDA)注入による CA 神経系破壊を行った。免疫組織化学染色は、2%パラフォルムアルデヒド、1%ピクリン酸、リン酸緩衝液による短時間固定を行った凍結切片を使用した。

(倫理面への配慮)

ラットの手術ならびにサンプリングに際しては、「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」ならびに本研究者所属研究所の動物実験倫理委員会の定めるところに従い、同委員会において具体的な実験計画の承認を受けて実施した。必要最少数の動物を用い、手術に際しては麻酔を用いて苦痛を与えないようにし、また脳摘出に際しては深麻酔による屠殺をするなどの配慮を行った。

C. 研究結果

LPS 大槽内注入 (125<sub>g</sub>/rat) による実験的髄膜炎：補体受容体 CR3、および MHC class II 抗原の免疫組織化学による検討では、LPS 投与後まず脳実質ミクログリアの活性化が脳の広い範囲に認められ、ついで血液単球の浸潤が生じた。LPS 投与 1 週間後になると、活性化ミクログリアによる神経細胞の貪食像が認められ

た。6OHDA の内側前脳束一側破壊を事前に行った一側 CA 系抑制モデルでは、LPS 大槽内投与 1 日後において CA 系脱入力側の線状体で MHC-II 陽性活性化ミクログリアがやや多い傾向が見られた。ICAM-1(CD54), LFA-1(CD11a)については、CA 系脱入力の有無による明らかな差は認められなかった。しかし、神経細胞による c-Fos/FLA 発現は、健常側線状体に比べ、CA 系脱入力側において明らかに亢進していた。

LPS 腹腔内投与 (750\_g/rat) による身体炎症の脳への波及と CA 系脱入力の影響：6OHDA 局所注入による内側前脳束破壊の急性炎症性変化の影響を避けるため、6OHDA 注入を前年度にあらかじめ実施しておいて 17 ヶ月間飼育した後に LPS の腹腔内投与を行い、その 24 時間後の脳を解析した。CA 系脱入力側線状体では、CR3・MHC-II 染色にて健常側よりも多数の活性化ミクログリアを認めた。また c-Fos/FLA 陽性神経細胞も健常側に比べ CA 系脱入力側線状体で多数認めた。

#### D. 考察

LPS の受容体である TLR-4 は単核貪食細胞系細胞に発現しており、脳の場合、髄液腔 (大槽) への LPS 注入によりただちに影響を受ける細胞はミクログリア等のマクロファージ類似細胞である (これらの細胞は活性化される)。しかしこれらの細胞の活性化が高度であると、数日の経過で神経細胞の細胞死が誘導されることが明らかになった。また元来非常に豊富なドーパミン(DA)入力がある線状体において、あらかじめ CA (実質的には DA) 系脱入力が生じていると、ミクログリアの活性化がやや高度になるとともに、神経細胞の急性変化である c-Fos/FRA 発現が亢進し、DA 入力が線状体で免疫・炎症反応に対して抑制的に作用していることが示された。さらに、線状体における DA の免疫・炎症反応抑制作用は、身体炎症の脳実質への波及においても機能していることが、神経細胞による c-Fos/FRA 発現およびミクログリア活性化の両面から示された。

脳では確かに免疫・炎症反応は起こり

にくい、それは従来考えられていた“末梢血液からの隔離”よりも、むしろ脳の細胞が免疫系を抑制する因子を発現して抗炎症性の微小環境を維持していることによると考えられている。そのような免疫抑制性因子の候補として、今回、少なくとも線状体においては DA 系神経支配が関与していることが示唆された。同様の抑制ネットワークを形成する脳内因子として、DA 以外にもアストロサイトが発現する TGF $\beta$ 、神経細胞膜蛋白質である CD200 や telencephalin、また神経伝達物質ではニューロペプチド Y やアセチルコリン (特にニコチン酸 $\alpha$ 7 受容体を介した作用) などと考えられる。今後はこれらの抑制因子にも検索を広げ、脳における免疫抑制性ネットワークのさらなる解明を図る必要がある。

#### E. 結論

ミクログリアの高度の活性化は、その結果として神経細胞死を引き起こしうる。また線状体において、DA 系神経支配は免疫・炎症反応を抑制する機能も併せて担っており、その機能低下は、炎症性神経疾患の増悪、および身体炎症の脳実質への波及の促進を招く可能性が高い。

#### F. 危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

【原著 (英文)】

Oshima K, Akiyama H, Tsuchiya K, Kondo H, Haga C, Shimomura Y, Iseki E, Uchikado H, Kato M, Niizato K, Arai H, Relative paucity of tau accumulation in the small areas with abundant Abeta42-positive capillary amyloid angiopathy within a given cortical region in the brain of patients with Alzheimer pathology. *Acta Neuropathol* (in press)

Uchihara T, Tsuchiya K, Nakamura A, Akiyama H, Argyrophilic grains are not always argyrophilic-Distinction from neurofibrillary tangles of diffuse neurofibrillary tangles with calcification revealed by comparison between Gallyas and Campbell-Switzer methods. *Acta Neuropathol* 110:158-164, 2005

Tsuchiya K, Nakayama H, Haga C, Oshima K, Niizato K, Arai T, Matushita M, Akiyama H, Distribution of cerebral cortical lesions in

diffuse neurofibrillary tangles with calcification: a clinicopathological study of four autopsy cases showing prominent parietal lobe involvement. *Acta Neuropathol* 110:57-68, 2005

Uchihara T, Tsuchiya K, Nakamura A, Akiyama H, Silver staining profiles distinguish Pick bodies from neurofibrillary tangles of Alzheimer type: comparison between Gallyas and Campbell-Switzer methods. *Acta Neuropathol* 109:483-489, 2005

Tsuchiya K, Murayama S, Mitani K, Oda T, Arima K, Mimura M, Nagura H, Haga C, Akiyama H, Yamanouchi H, Mizusawa H, Constant and severe involvement of Betz cells in corticobasal degeneration is not consistent with pyramidal signs: a clinicopathological study of ten autopsy cases. *Acta Neuropathol* 109:353-366, 2005

Tsuchiya K, Oda T, Yoshida M, Sasaki H, Haga C, Okino H, Tominaga I, Matsui K, Akiyama H, Hashizume Y, Degeneration of the inferior olive in spinocerebellar ataxia 6 may depend on disease duration: Report of two autopsy cases and statistical analysis of autopsy cases reported to date. *Neuropathology* 25:125-135, 2005

【原著 (和文)】

太田聡, 土谷邦秋, 安野みどり, 秋山治彦, Semantic dementia を呈した Dementia lacking distinctive histology の 1 剖検例. *脳と神経* 57:233-238, 2005

【総説 (英文)】

Akiyama H, Uchikado H, Brain inflammation and psychogeriatric diseases. In: I.Hanim, R.Cacabelos & A.Fisher eds. "Progress in Alzheimer's and Parkinson's Diseases" pp139-144, Taylor&Francis, London, 2005

Ikeda K, Mizuno Y, Akiyama H, Iritani S, Matsuchita M, Early diagnosis of Alzheimer's type dementia with special reference to the clinicopathology of mild cognitive impairment, *Psychogeriatrics* 4:89-95, 2005

【総説 (和文)】

秋山治彦, 認知症の予防と治療, そのエビデンス 5.内科疾患からみた認知症の予防 3)神経炎症の立場から(NSAIDs なども含め). *Progress in Medicine* (in press)

秋山治彦, アミロイドβタンパク質 (Aβ), タウ, αシヌクレインとグリア, *神経精神薬理学雑誌* (in press)

秋山治彦, 病理学からみた認知症におけるニコチン性アセチルコリン受容体の意義とその機能. *Cognition and Dementia* 5:7-12, 2006

秋山治彦, 抗炎症薬による治療アプローチの現状と課題. *老年精神医学* 16 (増刊Ⅲ):135-140, 2005

秋山治彦, アルツハイマー病とミクログリア, *神経研究の進歩* 49(3):347-356, 2005

秋山治彦, アルツハイマー病の治療: NMDA 受容体拮抗薬, NSAIDs 等, モダンフィジシャン

25:1092-1095, 2005

## 2. 学会発表

Akiyama H, Kondo H, Haga C, Shimomura Y, Obi K, Oshima K, Tsuchiya K, Two types of Abeta removal by glial cells, 18th World Congress of Neurology, Sydney, Australia [2005/11/09]

秋山治彦 Aβワクチンと神経炎症. 第24回日本痴呆学会学術集会, 大阪 [2005/09/30].

秋山治彦 Aβ, tau, α-synuclein and glial cells. 第27回日本生物学的精神医学会, 大阪 [2005/07/08].

秋山治彦, 近藤ひろみ, 下村洋子, 羽賀千恵, 土谷邦秋 トロンピン阻害剤 PPACK (D-Phe-Pro-Arg-CMK) による実験的脳病変. 第46回日本神経病理学会総会学術研究会, 宇都宮 [2005/05/12].

秋山治彦, 土谷邦秋 アルツハイマー病老人班におけるアミロイドβ蛋白質 (Aβ) 沈着処理. 第102回日本内科学会講演会, 大阪 [2005/04/08].

秋山治彦 トロンピン阻害剤による実験的脳病変. 第32回日本脳科学会, 千葉 [2005/06/03].

秋山治彦, 土谷邦秋, 小尾公美子 ミクログリア活性化に伴う老人斑の消失過程. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島 [2005/05/26].

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

分担研究報告書

ヒト脳毛細血管内皮細胞の条件的不死化による

in vitro BBB model の樹立

分担研究者	神田 隆	山口大学医学部脳神経病態学神経内科
共同研究者	佐野泰照, 清水文崇, 前田敏彦, 安部真彰, 中山寛人,	
	藤井正美, 鈴木倫保	山口大学医学部脳神経病態学神経内科
	寺崎哲也	山口大学医学部脳神経病態学脳神経外科
	帯刀益夫	東北大学未来科学技術共同研究センター 東北大学加齢医学研究所

研究要旨

難治性自己免疫性脳疾患において、血液脳関門（blood -brain barrier, BBB）の破綻と修復は病勢の進行・終息の鍵となる病的プロセスである。BBB の首座は脳微小血管内皮細胞（brain microvascular endothelial cells: BMECs）であり、BMECs を用いた優れた in vitro BBB model の構築は、BBB レベルでの病態解析や治療法の開発において必要不可欠なツールとなっている。今回われわれは、優れたヒト in vitro BBB モデルを樹立するために温度感受性 SV40 large T 抗原（tsA58）遺伝子を用い、ヒト BMECs の条件的不死化細胞株の作成を試みた。側頭葉てんかん患者の手術摘出脳組織より、BMECs を単離し、得られた BMECs のコロニーにレトロウイルスベクターを用いて tsA58 遺伝子を導入した。今後、33℃にて培養、増殖させた後、37℃の条件に移し、BBB としての特性の確認を行う予定である。

A.研究目的

ヒト由来の in vitro BBB model は難治性免疫性疾患研究に寄与するばかりでなく、BBB の性質、とくにヒトの BBB の特性を明らかにするために必要不可欠なツールといえる。しかしながら、健常なヒトの脳組織が得にくい点、また、仮に脳毛細血管内皮細胞（brain microvascular endothelial cells: BMECs）

の一次培養に成功したとしても、その life span は短く、数回の継代で発育が停止してしまう、といった種々の理由により、その作成は困難を極めている。これまでラットやマウスを用いた BMECs の不死化細胞株樹立の報告はあるが、ヒト BMECs 由来の in vitro BBB モデル、とりわけ条件的不死化株の報告はなされていない。本研究において我々は、ヒトの脳

組織から BMECs を単離し、レトロウイルスを用いて tsA58 遺伝子の導入を試みた。

## B.研究方法

### <retrovirus vector の作成>

pSVtsA58ori(-)-2 (Obinata et al. GenestoCells, 1997) より制限酵素を用いて温度感受性 SV40 large T 抗原 cDNA を含む fragment を切り出し、pDONAI (TaKaRa) へ組み込んだ。293 改変細胞および Retrovirus Packaging Kit Amphi (TAKARA) を用いてパッケージングを施行し、組み換え retrovirus を調製した。

### < brain microvascular endothelial cells(BMECs)の単離>

材料として側頭葉てんかん患者の手術摘出脳組織を用いた。大脳皮質を中心に径 10mm 程度の block として大脳の一部を摘出。BBB と直接関係のない脳軟膜血管の混入を避ける目的で、実体顕微鏡下に丁寧に軟膜を剥離・除去する。酵素(dispase)により BBB を構成する微小血管を遊離させ、遠沈により得られた血管画分を 190  $\mu$ m 径のナイロンメッシュに通して BBB と関連しない大きな血管を除去する。その他は既報告 (Kanda T et al. J Cell Biol, 1994) の method に準ずる。

### <BMECs の characterization および解析>

脳毛細血管を分離後、33°C で cloning を行う。バリアー構成内皮細胞の特徴である spindle-fiber 状の形態を呈した内皮細胞群を分離し、Von Willbrand factor の発現および DiI-Ac-LDL のとりこみ確認を行う。電気抵抗 (Transendothelial electrical resistance(TEER)) や  $^{14}$ C-labeled inulin を用いた透過性の検定を行うとともに、occludin や claudin-5 などの分子の発現を確認し、バリアー機能を検証す

りアー機能を検証する。これらの要件を満たしたものを in vitro BBB モデルとして樹立する。

### (倫理面への配慮)

山口大学医学部倫理委員会に本研究の研究計画書を提出し、承認を得ている。また、患者に対しインフォームドコンセントを実施している。

## C.研究結果

温度感受性 SV40 ラージ T 抗原 cDNA を有する組み換えレトロウイルスを作成した。また、側頭葉てんかん患者の摘出脳から BMECs の単離に成功した。得られた BMECs は BBB を構成する内皮細胞の特徴である spindle-fiber typed morphology を呈していた。また、DiI-Ac-LDL の取り込みも確認し、得られた BMECs は in vitro BBB モデルの候補になりうることを確認した。現在、ウイルスの transfection を施行し 33°C にて培養を施行中である。

## D.考察

この tsA58 遺伝子を用いた BMECs の条件的不死化細胞株は transgenic rat を用いたケースがすでに報告されており、33°C にて、不死化の引き金が引かれ、増殖を示すが、37°C では増殖が停止し、より生理的な状態に近づき、BBB の性質をよく保持しているとされている (Hosoya KI et al. J Drug Target, 2000)。同報告によれば、得られた BMECs のクローン間で発育速度や tight junction protein の発現量などに差異があり、今回われわれが作成する条件的不死化 BMECs 株でもクローン (クローン) 間でその性質が異なることが想定されるため、できるだけ多くの細胞株を樹立し、

Characterization を行い、優れたヒト in vitro BBB モデルを確立する予定である。

## E. 結論

温度感受性 SV40 ラージ T 抗原を用いたヒト BMECs の条件的不死化細胞株の作成をこころみた。組み換えウイルスの作成およびヒト BMECs の単離を行った。

## 【参考文献】

1) Obinata et al.: Conditionally immortalized cell lines with differentiated functions established from temperature-sensitive T-antigen transgenic mice.

Genes to Cells 2, 235-244, 1997.

2) Kanda T et al.: Glycosphingolipid antigens in cultured bovine brain microvascular endothelial cells: sulfoglucuronosyl paragloboside as a target of monoclonal IgM in demyelinating neuropathy.

J Cell Biol 26(1):235-46, 1994

3) Hosoya KI et al.: mRNA expression and transport characterization of conditionally immortalized rat brain capillary endothelial cell lines; a new in vitro BBB model for drug targeting.

J Drug Target 8(6):357-70, 2000

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kazuyuki Ishida, Yoshiaki Wada, Taiji Tsunemi, Takashi Kanda, Hidehiro Mizusawa: Marked hypertrophy of the cauda equina in a patient with

chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy presenting lumbar stenosis. J Neurology 252: 239-240, 2005.

Satoko Hori, Sumio Ohtsuki, Masashi Ichinowatari, Takanori Yokota, Takashi Kanda, Tetsuya Terasaki: Selective gene silencing of rat ATP-binding cassette G2 transporter in an in vitro blood-brain barrier model by short interfering RNA. J Neurochem 93: 63-71, 2005.

Jun-ichi Satoh, Megumi Nakanishi, Fumiko Koike, Sachiko Miyake, Toshiyuki Yamamoto, Mitsuru Kawai, Seiji Kikuchi, kyuoichi Nomura, Kazumasa Yokoyama, Kohei Ota, Takashi Kanda, Toshiyuki Fukazawa, Takashi Yamamura: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. Neurobiol Dis 18: 537-550, 2005.

Taro Hino, Takanori Yokota, Shingo Ito, Kazutaka Nishina, Young-Soo Kang, Shinobu Mori, Satoko Hori, Takashi Kanda, Tetsuya Terasaki, Hidehiro Mizusawa: In vivo delivery of small interfering RNA targeting brain capillary endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 340: 263-267, 2006.

神田 隆: 糖尿病性神経障害の病理. 日本臨床別冊 糖尿病性最小血管症. pp482-487, 2005.

神田 隆: 神経系のバリアーシステム. 山口医学 54: 5-11, 2005.

神田 隆: 膠原病に伴う末梢性ニューロパチー. 矢崎義雄、菅野健太郎監修、疾患別最新処方改訂第4版. メジカルビュー社、pp636-637, 2005.

神田 隆: 神経領域. 奈良信雄編、基本医学略語事典. 中外医学社、2005.



神田 隆: シャルコー・マリー・トウス病.  
七川欽次監修、リウマチ病セミナーXVI. 永  
井書店、pp98-108, 2005.

## 2. 学会発表

Kiyoshi Negoro, Yukiko Tada , Takashi Kanda :  
Investifation of headache management of general  
practitioners in Yamaguchi, Japan. 18th World  
congress of Neurology (Sydney), 2005, J Neurol  
Sci 238:S488, 2005.

Kiyoshi Negoro, Yukiko Tada , Yukiko Nomura,  
Takashi Kanda : Investifation of headache  
management of general practitioners in  
Yamaguchi, Japan. 12th International Headache  
Congress (Kyoto), 2005, Cephalalgia 25 : 950,  
2005.

Yukiko Tada , Kiyoshi Negoro, Yukiko Nomura,  
Takashi Kanda : Changes in the number of the  
patients with migraine consulting our department  
after the opening of the headache clinic. 12th  
International Headache Congress (Kyoto), 2005,  
Cephalalgia 25 : 949, 2005.

Yukiko Nomura, Yukiko Tada, Kiyoshi Negoro,  
Takashi Kanda : Clinical efficacy of eletriptan in  
the acute treatment of migraine. 12th  
International Headache Congress (Kyoto), 2005,  
Cephalalgia 25 : 920, 2005.

根来 清, 多田由紀子, 能村友紀子, 小笠原  
淳一, 川井元春, 神田 隆: 一般医の頭痛診  
療に対する意識調査. 第 46 回日本神経学会  
総会, 鹿児島, 2005.5.

川井元晴, 清水文崇, 能村友紀子, 木山真紀  
子, 尾本雅俊, 小笠原淳一, 根来 清, 森松  
光紀, 神田 隆: インターフェロン $\beta$  導入後  
の多発性硬化症の再発に関する臨床的検討.  
第 17 回日本神経免疫学会. 福岡, 2005. 3.

川井元晴, 清水文崇, 根来 清, 神田 隆,

福迫俊弘: Mollaret 細胞が確認された単純ヘ  
ルペスウイルス 2 型再発性髄膜炎の 29 歳男  
性例. 第 10 回日本神経感染症学会. 東京,  
2005.10.

川井元晴, 能村友紀子, 前田敏彦, 清水文崇,  
中山寛人, 木村正道, 尾本雅俊, 坂田尚広,  
木山真紀子, 小笠原淳一, 佐野泰照, 根来 清,  
神田 隆: 筋萎縮性側索硬化症患者における  
延命処置の受け入れに関する検討. 第 46 回  
日本神経学会総会, 鹿児島, 2005. 5.

田中信一郎, 石丸孝則, 山下勝弘, 神田 隆:  
外頸動脈内に留置されたカテーテルからの逆  
行性塞栓症の 1 例. 第 78 回神経学会中四国  
地方会, 岡山, 2005. 6

小笠原淳一, 根来 清, 川井元晴, 神田 隆,  
森松光紀: 大脳皮質基底核変性症と進行性核  
上性麻痺はルーチン MRI で鑑別できるか.  
第 46 回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005.5.

佐野泰照, 川井元晴, 小笠原淳一, 多田由紀  
子, 根来 清, 神田 隆: 吸気性喘鳴で発症  
した多系統萎縮症の臨床的検討, 第 46 回日  
本神経学会総会, 鹿児島, 2005. 5.

尾本雅俊, 川井元晴, 福迫俊弘, 根来 清,  
神田 隆, 木村成志, 宮田 元, 大浜栄作:  
Alzheimer 病の経過中に Creutzfeldt-Jakob 病を  
併発した一剖検例. 第 46 回日本神経病理学  
会総会, 宇都宮, 2005.5.

尾本雅俊, 小笠原淳一, 川井元晴, 福迫俊弘,  
根来 清, 神田 隆: 当科外来におけるボツ  
リヌス毒素治療内容の経時的変化についての  
検討. 第 46 回日本神経学会総会, 鹿児島,  
2005.5.

尾本雅俊, 崔 丹, 河野裕夫, 石原得博, 神田  
隆: Negative stain を用いたヒトおよび各種哺  
乳類における Amyloid 線維の検討. 第 47 回  
日本顕微鏡学会九州支部学術講演会, 宇部,

2005.12.

三隅俊吾, 小笠原淳一, 川井元晴, 根来 清, 神田 隆: 急速に増悪した呼吸不全を呈した cytoplasmic body myopathy の 27 歳男性例. 第 79 回日本神経学会中国四国地方会, 松山, 2005.12.

坂田尚広, 川井元晴, 神田 隆: 一過性の回転性めまいを呈した椎骨動脈解離症例における凝固系検査の有用性. 第 46 回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005. 6.

坂田尚広, 川井元晴, 神田 隆: 一過性の回転性めまいを呈した椎骨動脈解離症例における凝固系検査の有用性. 第 30 回日本脳卒中学会, 盛岡, 2005. 4.

木山真紀子, 星井嘉信, 神田 隆, 石原得博: ATTR アミロイド特異的モノクローナル抗体作製.

第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005.5.

木山真紀子, 星井嘉信, 崔 丹, 河野裕夫, 神田 隆, 石原得博: 免疫グロブリンλ鎖部位特異抗体を用いたAλアミロイドーシスの免疫組織学的検討. 第104回山口大学医学会学術講演会, 宇部, 2005.7.

木山真紀子, 星井嘉信, 崔 丹, 河野裕夫, 神田 隆, 石原得博: 免疫グロブリンλ鎖部位特異抗体を用いたAλアミロイドーシスの免疫組織学的検討. 日本病理学会総会, 横浜, 2005.4.

安部真彰, 木山真紀子, 坂田尚広, 尾本雅俊, 小笠原淳一, 川井元晴, 根来 清, 神田 隆: 非ヘルペス性辺縁系脳炎 3 例の臨床的検討. 第 46 回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005. 5.

安部真彰, 小笠原淳一, 川井元晴, 根来 清, 神田 隆: 交感神経節後線維の選択的障害を来した脳炎後急性自律神経障害の 24 歳女性例. 第 78 回日本神経学会中国四国地方会,

岡山, 2005. 6.

安部真彰, 清水文崇, 川井元晴, 小笠原淳一, 根来 清, 神田 隆: 首下がりを呈した頸椎症の 60 歳女性例. 第 17 回日本老年学会中国地方会, 宇部, 2005.10.

安部真彰, 川井元晴, 小笠原淳一, 根来 清, 神田 隆, 能村友紀子: 体位により増悪快する fasciculation を右上肢と前胸部に呈した頸椎症の 64 歳男性例. 第 79 回日本神経学会中国四国地方会, 松山, 2005.12.

清水文崇, 小笠原淳一, 川井元晴, 根来 清, 神田 隆: Duchenne 型筋ジストロフィー manifesting carrier の臨床的検討. 第 46 回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005. 5.

清水文崇, 川井元晴, 佐野泰照, 小笠原淳一, 根来 清, 神田 隆: 頻発する発作に verapamil が奏効した家族歴が明らかでない片麻痺性片頭痛の 36 歳男性例. 第 23 回神経治療学会総会, 2005. 6

清水文崇, 川井元晴, 小笠原淳一, 根来 清, 神田 隆, 森松光紀: フェンタニル貼布後に急性および遅発性意識障害を呈した 84 歳女性例. 第 93 回日本内科学会中国地方会, 宇部, 2005.10.

清水文崇, 川井元晴, 小笠原淳一, 根来 清, 神田 隆: 位置覚の入力により誘発され三重屈曲様の肢位を伴う左下肢筋痙攣に対し腰部神経根及び交感神経節ブロックが奏効した 70 歳男性例. 第 79 回日本神経学会中国四国地方会, 松山, 2005.12.

中山寛人, 福迫俊弘, 能村友紀子, 川井元晴, 佐野泰照, 根来 清, 神田 隆, 森松光紀: 脊髄硬膜動静脈瘻の臨床的検討. 第 46 回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005. 5.

中山寛人, 小笠原淳一, 川井元晴, 根来 清, 神田 隆: 腰椎穿刺を契機に起立性頭痛が出

現し、MR myelography にて胸腔背側に髄液漏出が明らかとなった低髄液圧症候群の 36 歳男性例。

第 78 回神経学会中四国地方会，岡山，2005. 6.

中山寛人，木村正道，佐野泰照，小笠原淳一，川井元晴，根来 清，神田 隆，能村友紀子，森松光紀：高齢者における treatable myelopathy としての脊髄硬膜動静脈瘻。

第 17 回日本老年医学会中国地方会，宇部，2005.10.

中山寛人，川井元晴，尾本雅俊，小笠原淳一，根来 清，神田 隆：左下退部屈筋群を病変の主座とした封入体筋炎の 68 歳男性例。第 79 回日本神経学会中国四国地方会，松山，2005.12.

能村友紀子，多田由紀子，尾本雅俊，佐野泰照，小笠原淳一，川井元晴，根来 清，神田 隆，森松光紀：頭痛外来開設後の頭痛患者受診状況に関する検討。第 46 回日本神経学会総会，鹿児島，2005.5.

能村友紀子，根来 清，多田由紀子，小笠原淳一，川井元晴，神田 隆：入院治療により薬剤離脱できたエルゴタミン乱用頭痛の 2 例。第 23 回日本神経治療学会総会，鳥羽，2005.6.

能村友紀子，川井元晴，小笠原淳一，安部真彰，根来 清，神田 隆：ベーチェット病による多発根神経障害が疑われた 55 歳女性例。第 92 回日本内科学会中国地方会，岡山，2005. 6.

前田敏彦，小笠原淳一，川井元晴，根来 清，神田 隆：幻覚を有するパーキンソン病患者の脳血流量変化。第 46 回日本神経学会総会，鹿児島，2005. 5.

前田敏彦，小笠原淳一，川井元晴，根来 清，神田 隆：急速に進行する四肢の筋萎縮・筋力低下をきたし，タイプ 2B 線維の欠損を認められた 60 歳女性例。第 92 回日本内科学会中国地方会，岡山，2005. 6.

前田敏彦，小笠原淳一，川井元晴，根来 清，神田 隆：腓腹神経の Schwann 細胞・神経周膜細胞胞体内に脂肪沈着を認める軸索障害型感覚ニューロパチーの 30 歳女性例。第 79 回日本神経学会中国四国地方会，松山，2005.12.

木村明代，能村友紀子，田中信一郎，安部真彰，尾本雅俊，根来 清，神田 隆：精神症状が先行した MELAS の 23 歳男性例。第 79 回日本神経学会中国四国地方会，松山，2005.12.

高木崇衣，清水文崇，川井元晴，小笠原淳一，根来 清，神田 隆：腸壁嚢胞状気腫を来たした多系統萎縮症の 60 歳男性例。第 93 回日本内科学会中国地方会。宇部，2005.10.

#### H.知的財産権の出願・登録情報

特許取得：なし

実用新案登録：なし

## 多発性硬化症患者血清中の抗 Nogo 受容体抗体の検出

佐藤 準一、尾上 祐行、南里 悠介、山村 隆

国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部

**研究要旨** Nogo は神経突起伸展抑制活性を呈する蛋白質 family で isoform A, B, C が存在する。Nogo-A は oligodendrocytes (OL), myelin 特異的に発現し、endoplasmic reticulum, Golgi complex, plasma membrane に局在している。Nogo-A の C 末端 Nogo-66 は神経細胞・軸索上の受容体 NgR と結合し、NgR coreceptor LINGO-1/p75<sup>NTR</sup> or TROY-RhoA 系を介して神経突起伸長抑制シグナルを伝達する。脊髄損傷モデル動物に Nogo-A 中和抗体 IN-1 を投与すると、軸索再生・機能的回復が飛躍的に促進される。多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は軸索傷害により進行すると考えられているので、軸索再生を標的とする治療法開発が重要である。最近 myelin-oligodendrocyte glycoprotein (MOG)などの中枢神経系髄鞘抗原に対する抗体が MS 血清・脳組織で検出され、脱髄・軸索傷害の誘導に関与している可能性が報告されている。本研究では MS 軸索傷害時の Nogo の役割を調べるため、MS 患者血清中の抗 Nogo, NgR 抗体をリコンビナント蛋白質をプロットしたミニアレイを用いて Western blot 法で検出した。その結果、血清抗 Nogo-66 抗体や抗 NgR 抗体は MS のみならず対照神経疾患や健常者でも高頻度検出され、MS 診断特異的のマーカーとはならないことが判明した。

### A. 研究目的

Nogo は神経突起伸展抑制活性を呈する蛋白質 family で isoform A, B, C が存在する。Nogo-A は oligodendrocytes (OL), myelin 特異的に発現し、endoplasmic reticulum, Golgi complex, plasma membrane に局在している。Nogo-A の C 末端 Nogo-66 は神経細胞・軸索上の受容体 NgR と結合し、NgR coreceptor LINGO-1/p75<sup>NTR</sup> or TROY-RhoA 系を介して神経突起伸長抑制シグナルを伝達する。ラット脊髄切断モデルに Nogo-A 中和抗体 IN-1, NgR 阻害ペプチド

NEP1-40, または soluble NgR(310) ecto を投与すると、軸索再生・機能的回復が飛躍的に促進される。多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)は軸索傷害により進行すると考えられているので、軸索再生を標的とする治療法開発が重要である。最近 myelin-oligodendrocyte glycoprotein (MOG)などの中枢神経系髄鞘抗原に対する抗体が MS 血清・脳組織で検出され、脱髄・軸索傷害の誘導に関与している可能性が報告されている(Berger et al. N Engl J Med 349: 139-145, 2003; Lennon et al. Lancet 364:

2106-2112, 2004)。本研究では MS 軸索傷害における Nogo の役割を調べるため、MS 患者血清中の抗 Nogo, NgR 抗体を Western blot 法で検出した。

## B. 研究方法

#1. 対象：凍結保存した MS(n= 30; RR 26 vs SP/PP 4), non-MS 神経疾患(OND; n = 22), 健常人(healthy control HC; n = 22)の血清(1:1000 in all except for 1:10,000 in NgR-Fc)を用いた。

#2. 標準リコンビナント蛋白質をブロットしたミニアレイを用いた Western blot 解析：the Nogo-A-specific segment (NAS; amino acids 186-1004 of Nogo-A), the segment shared between Nogo-A and Nogo-B (NAB; amino acids 1-185 of Nogo-A), Nogo-66 (N66; amino acids 1053-1118 of Nogo-A), the non-glycosylated form of Nogo receptor (NgR; amino acids 27-473 of NgR), myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG30-247) 作成は対応する遺伝子を pTrcHis-TOPO にクローニングし *E. coli* をトランスフォームした。IPTG を添加し強制発現させた lysates を SDS-PAGE で泳動分離後に、Xpress tag fusion protein をゲルから切り出し濃縮した。The glycosylated form of NgR (NgR-Fc: amino acids 1-447 of NgR plus amino acids 100-330 of IgG)は R&D Systems より購入した。上記リコンビナント蛋白質を SDS-PAGE で泳動、nitrocellulose 膜に転写してミニアレイを作成し、希釈血清とオーバーナイト・室温で反応させた。

(倫理面への配慮)

血清は本人の同意を受けて提供された。

## C. 研究結果

#1. 抗 NAS or NAB IgG 抗体は検出されなかった。

#2. 30% of MS, 23% of OND, 32% of HC で抗 N66 IgG 抗体を検出した(図 1, upper panel)。

#3. 27% of MS, 27% of OND, 18% of HC で抗 MOG IgG 抗体を検出した。

#4. 33% of MS, 14% of OND, 0% of HC で抗 non-glycosylated NgR IgG 抗体を検出した(図 1, lower panel)。

#5. 60% of MS, 18% of OND, 14% of HC で抗 NgR-Fc IgG 抗体を検出したが、抗 NgR-Fc IgM 抗体は検出されなかった。

#6. 抗 NgR-Fc IgG 抗体陽性者は relapsing-remitting (RR)MS では寛解期(n =12) vs 再発期(n = 2)で、寛解期の患者が多かった。

## D. 考察

脊髄損傷動物に Nogo-A 中和抗体 IN-1 など を投与して Nogo-NgR interaction を block すると、軸索再生・機能的回復が飛躍的に促進される。従って Nogo-NgR interaction の存在が成体における神経再生不全の主要因と考えられる。最近我々は Nogo-A は MS 慢性活動性脱髄巣に残存している surviving OL で高発現を認め、NgR は反応性アストロサイト(astrocytes; AS)やミクログリア(microglia; MCG)で高発現を認めることを報告した(Satoh et al. J Neuropathol Exp Neurol 64: 129-138, 2005)。今回我々は MS, non-MS, HC で比較的高頻度に、抗 Nogo-66 抗体や抗 NgR 抗体を検出した。これは Nogo-NgR 系の発現が中枢神経系の髄鞘や軸索に限局的ではなく、低レベルの構成的発現が免疫系を含む非神経系組織でも広く分布し、外傷・炎症などを契機に自己抗原と認識され、潜在的に

抗体が産生される可能性が考えられる。また RRMS では抗 NgR-Fc IgG 抗体はおそらく免疫系制御を介して寛解維持に関与している可能性がある。

#### E. 結論

血清抗 Nogo-66 抗体や抗 NgR 抗体は MS, non-MS, HC で高頻度検出され、MS 診断特異的のマーカートとはならない(Onoue et al. Multiple Sclerosis, submitted for publication)。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Satoh J, Nakanishi M, Koike F, Miyake S, Yamamoto T, Kawai M, Kikuchi S, Nomura K, Yokoyama K, Ota K, Kanda T, Fukazawa T, Yamamura T: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiology of Disease* 18: 537-550, 2005.
2. Satoh J, Onoue H, Arima K, Yamamura T: Nogo-A and Nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 64(2): 129-138, 2005.
3. Satoh J, Onoue H, Arima K, Yamamura T: The 14-3-3 protein forms a molecular complex with heat shock protein Hsp60 and cellular prion protein. *Journal of Neuropathology and*

*Experimental Neurology* 64(10): 858-868, 2005.

4. Satoh J, Nanri Y, Yamamura T: Rapid identification of 14-3-3-binding proteins by protein microarray analysis. *Journal of Neuroscience Methods*. 27-Oct. Epub a head of print, 2005.
5. 佐藤 準一: DNA マイクロアレイによる多発性硬化症の免疫病態の解析. 特集 I サイトカイン・ケモカインからみた多発性硬化症の病型と病態. *Neuroimmunology* 13(2): 167-178, 2005.
6. 佐藤 準一: 網羅的遺伝子発現解析による多発性硬化症の病態・薬物反応性. 特集 II 遺伝子チップ解析の現状とその将来に期待される展開. *炎症と免疫*, 14(2):205-216, 2006.
7. 佐藤 準一: 多発性硬化症のマイクロアレイ診断. 特集 II 多発性硬化症研究・治療の現状 2006. *神経研究の進歩*, 2006, 印刷中.
8. 佐藤 準一: 多発性硬化症. *インターフェロン治療学. 最新の基礎・臨床. 日本臨床*, 2006, 印刷中.

##### 書籍

9. Satoh J. Protein Microarray Analysis for Rapid Identification of 14-3-3 Protein Binding Partners. In *Functional Protein Microarrays in Drug Discovery*. Edited by Predki PF. CRC Press, Boca Raton, FL, 2006, In press.

##### 2. 学会発表

## 国際学会

1. Satoh J, Onoue H, Arimak K, Yamamura T: Nogo-A and Nogo receptor expression is enhanced in demyelinating lesions of multiple sclerosis. 57th Annual Meeting of American Academy of Neurology. Miami Beach, 2005. 4.12. (Neurology 64, Suppl 1: A138, 2005).
2. Satoh J, Onoue H, Nanri Y, Arima K, Yamamura T: The 14-3-3 Protein Forms a Molecular Complex with Heat Shock Protein Hsp60 and Cellular Prion Protein: A Possible Implication for Detection of 14-3-3 in the CSF of Prion Diseases. The Fifth Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, 2005. 9.7. (Abstract P-084, p. 102, 2005).
3. Satoh J, Doi Y, Aranami T, Yamamura T: T cell gene expression profiling identifies four distinct subgroups of multiple sclerosis. International Symposium on Autoimmunity in Intractable Diseases-Novel Molecules and Emerging Paradigms. Hakone, 2005. 10.27. (Abstract 27S-2, 2005).
4. Doi Y, Satoh J, Aranami T, Yamamura T: NR4A2 (Nurr1), an orphan nuclear receptor, is overexpressed in peripheral blood T lymphocytes of multiple sclerosis. International Symposium on Autoimmunity in Intractable Diseases-Novel Molecules and Emerging Paradigms. Hakone, 2005. 10.27. (Abstract PV-17, 2005).
1. 佐藤準一: The 14-3-3 zeta isoform binds to heat shock protein HSP60 in human neural cells: a possible implication in prion diseases. 科学研究費補助金特定領域研究・感染の成立と宿主応答の分子基盤. 平成 16 年度 2 回全体班会議. 東京、2005. 1. 8 (抄録集 p.156-157).
2. 佐藤準一、山村隆、尾上祐行、有馬邦正: 多発性硬化症脱髄巢反応性アストロサイトにおける Nogo 受容体の発現. 厚生労働省特定疾患対策研究事業 免疫性神経疾患に関する調査研究班. 平成 16 年度班会議. 東京、2005. 1.26 (抄録集 p.20-21).
3. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、古池史子、山村隆: T 細胞の DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類. 第 17 回日本神経免疫学会学術集会. 福岡、2005. 3.3. (神経免疫学 13: 44, 2005). 第 17 回日本神経免疫学会会長賞受賞.
4. 尾上祐行、佐藤準一、山村隆: 多発性硬化症患者血清中の抗 Nogo Receptor 抗体の検出. 第 17 回日本神経免疫学会学術集会. 福岡、2005. 3.3. (神経免疫学 13: 72, 2005). 第 17 回日本神経免疫学会奨励賞受賞.
5. 土居芳充、佐藤準一、山村隆: 多発性硬化症の末梢血 T 細胞における NR4A2 発現上昇. 第 17 回日本神経免疫学会学術集会. 福岡、2005. 3.4. (神経免疫学 13: 104, 2005).
6. 佐藤準一、尾上祐行、有馬邦正、山村隆: 多発性硬化症脱髄巢における Nogo-A・Nogo 受容体の発現. 第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会. 宇都宮、2005. 5.13. (Neuropathology 25: A32, 2005).

## 国内学会

7. 佐藤準一、中西恵美、尾上祐行、土居芳充、古池史子、山村隆：DNA microarray 解析による多発性硬化症の病型分類. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.25. (抄録集 102, 2005).
8. 土居芳充、佐藤準一、山村隆：多発性硬化症(MS)末梢血 T 細胞における NR4A2 発現上昇. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.27. (抄録集 272, 2005).
9. 尾上祐行、佐藤準一、山村隆：多発性硬化症(MS)患者血清中の抗 Nogo 抗体の検出. 第 46 回日本神経学会総会. 鹿児島、2005. 5.27. (抄録集 272, 2005).
10. 山村隆、佐藤準一：cDNA マイクロアレイを用いた多発性硬化症の病態解析. 第 26 回日本炎症・再生医学会. ワークショップ 3. 網羅的遺伝子発現解析による炎症性疾患の病態解析と治療効果の予測. 東京、2005. 7.13. (炎症・再生 25: 289, 2005).
11. 佐藤準一、野村恭一、山村隆：CIDP 診断における DNA マイクロアレイ有用性に関する研究. 厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 難治性ニューロパチーの病態に基づく新規治療法の開発班. 平成 17 年度班会議. 東京、2005. 12.7.
12. 佐藤準一、南里悠介、土居芳充、山村隆：末梢血リンパ球におけるインターフェロン応答遺伝子の網羅的解析. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患の画期的診断・治療法に関する研究事業. 平成 17 年度班会議. 東京、2005.12.9.
13. 南里悠介、佐藤準一、土居芳充、山村隆：MS のマイクロアレイ診断およびインターフェロンベータ治療に関するアンケート調査の集計. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患の画期的診断・治療法に関する研究事業. 平成 17 年度班会議. 東京、2005.12.9.
14. Satoh J, Onoue H, Doi Y, Yamamura T : Detection of anti-Nogo-66 and anti-Nogo receptor autoantibodies in the serum of multiple sclerosis. 第 35 回日本免疫学会総会学術集会 横浜、2005. 12.13. (Proceedings of the Japanese Society for Immunology 35: 37, 2005).

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

1) 多発性硬化症に対するインターフェロン・ベータ薬物治療の有効性予測法(特開 2004-28926).

2) 多発性硬化症に関連する遺伝子の発現測定方法、多発性硬化症関連遺伝子の発現を測定するためのチップ、多発性硬化症の罹患を判断するための遺伝子群、多発性硬化症の評価方法.

(特開 2005-160440).

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



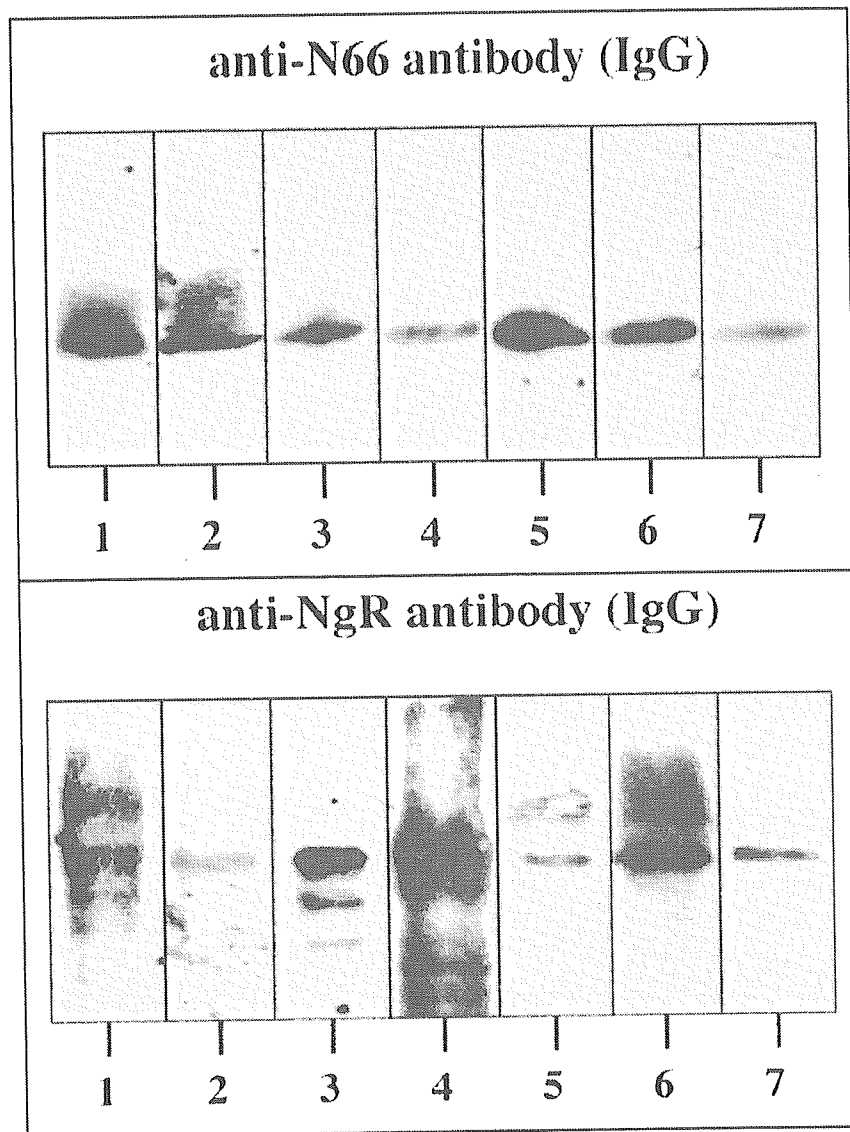


Figure. Detection of anti-Nogo-66 or non-glycosylated NgR IgG in the serum of MS and controls. (upper panel) (1) RRMS in acute relapse, (2) SPMS, (3) Parkinson's disease, (4) adrenoleukodystrophy, (5) HC, (6) HC, and (7) HC. (lower panel) (1) RRMS in remission, (2) RRMS in remission, (3) RRMS in remission, (4) SPMS, (5) Parkinson's disease, (6) spinocerebellar degeneration, and (7) Charcot-Marie-Tooth disease CMT1A.

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	ページ	出版年
Akiyama H, Uchikado H	Brain inflammation and psychogeriatric diseases	I. Hanim, R. Cacabelos & A. Fisher	Progress in Alzheimer's and Parkinson's	Taylor & Francis	London	139-144	2005

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
Ueno Y, Tanaka S, Sumii M, <u>Miyake S</u> , Tazuma S, Taniguchi M, <u>Yamamura T</u> , Chayama K.	Single dose of OCH improves mucosal Th1/Th2 cytokine balance and prevents experimental colitis in the presence of V $\alpha$ 14 NKT cells in mice	Inflammatory Bowel Disease	11 (1)	35-41	2005
Hashimoto D, Asakura S, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> , van Kaer L, Liu C, Tanimoto M, Teshima T.	Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells.	The Journal of Immunology	174	551-556	2005
Murata K, Toba T, Nakanishi K, Takahashi B, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> , Annoura H.	Total synthesis of an immunosuppressive glycolipid, (2S,3S,4R)-1-O-( $\alpha$ -D-galactosyl)-2-tetracosanoylamino-1,3,4-nonanetriol.	Journal of Organic Chemistry	70 (6)	2398- 2401	2005
Yu KOA, Im JS, Molano A, Dutronec Y, Illarionov PA, Forestier C, Fujiwara N, Arias I, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> , Chang YT, Besra GS, Porcelli SA.	Modulation of CD1d-restricted NKT cell responses by using N-acyl variants of $\alpha$ -galactosylceramides.	Proceedings of the National Academy of Sciences USA.	102 (9)	3383- 3388	2005
Ota T, Takeda K, Akiba H, Hayakawa Y, Ogasawara K, Ikarashi Y, <u>Miyake S</u> , Wakasugi H, <u>Yamamura T</u> , Kronenberg M, Raulet DH, Kinoshita K, Yagita H, Smyth MJ, Okumura K.	IFN- $\gamma$ -mediated negative feedback regulation of NKT-cell function by CD94/NKG2.	Blood	106 (1)	184-192	2005
Chiba A, Kaieda S, Oki S, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> .	The involvement of V $\alpha$ 14 NKT cells in the pathogenesis of arthritis in murine models.	Arthritis & Rheumatism	52 (6)	1941- 1948	2005
Toba T, Murata K, <u>Yamamura T</u> , <u>Miyake S</u> , 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	5043- 5047	2005
Ronet C, Darche S, de Moraes ML, <u>Miyake S</u> , <u>Yamamura T</u> , Louis JA, Kasper LH, Buzoni-Gatel D.	NKT Cells Are Critical for the Initiation of an Inflammatory Bowel Response against Toxoplasma gondii.	The Journal of Immunology	175	899-908	2005

Oki S, Tomi C, <u>Yamamura T</u> <u>Miyake S.</u>	Preferential Th2 polarization by OCH is supported by incompetent NKT cell induction of CD40L and following production of inflammatory cytokines by bystander cells in vivo.	International Immunology	17 (12)	1619-1629	2005
Okamoto N, Kanie O, Huang Y.Y, Fujii R, Watanabe H. <u>Shimamura M.</u>	Synthetic $\alpha$ -mannosyl ceramide as a potent stimulant for an NKT cell repertoire bearing the invariant V $\alpha$ 19-J $\alpha$ 26 TCR $\alpha$ chain.	Chemistry & Biology	12	677-683	2005
Satoh J, Onoue H, Arima K, <u>Yamamura T.</u>	Nogo-A and Nogo receptor expression in demyelinating lesions of multiple sclerosis.	Journal of Neuropathology and Experimental Neurology	64 (2)	129-138	2005
<u>Miyake S.</u> , <u>Yamamura T.</u>	Therapeutic potential of glycolipid ligands for natural killer (NK) T cells in the suppression of autoimmune diseases.	Current drug targets. Immune, endocrine and metabolic disorders.	5 (3)	315-322	2005
<u>Shimamura M.</u> , Okamoto N, Huang Y-Y, Yasuoka J, Morita K, Nishiyama A, Amano Y, Mishina T.	Induction of promotive rather than suppressive immune responses from a novel NKT cell repertoire V $\alpha$ 1 NKT cell with $\alpha$ -mannosylceramid analogies consisting of the immunosuppressant ISP-I as the sphingosin unit.	European Journal of Medicinal Chemistry		in press	
<u>三宅 幸子</u>	NKT細胞を標的とした自己免疫疾患治療法	アレルギー科	18 (6)	546-551	2004
<u>山村 隆</u>	ニューロペプチドYと免疫制御	アレルギー科	19 (6)	538-542	2005
<u>山村 隆</u>	多発性硬化症とNK細胞	Current Insights in Neurological Science	13	10-11	2005
<u>山村 隆</u>	ニューロペプチドYと免疫制御	臨床免疫	44	324-327	2005
<u>山村 隆</u>	糖脂質による新しい治療	臨床神経	45	909-911	2005
<u>三宅幸子</u>	$\alpha$ -ガラクトシルセラミドとその誘導体	分子リウマチ	2 (1)	39-46	2005
<u>三宅幸子</u>	免疫調節細胞と自己免疫疾患	Molecular Medicine	42 (4)	385-391	2005
<u>三宅幸子</u>	自己免疫病態調節と治療標的としてのNKT細胞	医学のあゆみ	213 (1)	59-63	2005
<u>三宅幸子</u>	OCHとCD1D	炎症と免疫	13 (4)	134-136	2005
<u>三宅幸子</u>	多発性硬化症	最新医学	60 (6)	183-192	2005
<u>秋山治彦</u>	アルツハイマー病とミクログリア	神経研究の進歩	49 (3)	347-356	2005