

30. Mori S, Tanda N, Ito MR, Tsubaki T, Komori H, Oishi H, Zhang MC, Ono M, Nishimura M, Nose M.: A novel arthritis model causing ankylosis derived from a recombinant congenic mouse strain between MRL/lpr and C3H/lpr crosses. 5th International Congress on Autoimmunity, Nov. 29- Dec. 3, 2006, Sorrento, Italy
31. Lu LM, Nakatani K, Terada M, Miyazaki T, Arita N, Zhan MC, Furukawa H, Ono M, Hiai H, Nose M. Dominant resistant loci to lupus nephritis involving CD59a in a wild type mice-derived inbred strain MSM/Ms. 5th International Congress on Autoimmunity, Nov. 29- Dec. 3, 2006, Sorrento, Italy
32. Komori H, Soga Y, Sawasaki T, Endo Y, Nose M.: Autoantibody-proteomics in autoimmune disease-prone recombinant inbred strains of mice using a novel high-throughput detection system. 5th International Congress on Autoimmunity, Nov. 29- Dec. 3, 2006, Sorrento, Italy
33. 佐々木直美, 石津明洋, 外丸詩野, 鈴木昭, 笠原正典, 吉木 敬. 血管炎惹起性ラット T 細胞の樹立と解析. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006.
34. 馬場智久, 岩崎沙理, 石津明洋, 鈴木昭, 外丸詩野, 池田 仁, 吉木 敬, 笠原正典. CD4/CD8 double positive マクロファージの抗腫瘍活性の検討. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006.
35. 外丸詩野, 山野嘉久, 鈴木 昭, 石津宮武由甲子, 石津明洋, 池田 仁, 馬場智久, 鈴木 昭, 外丸詩野, 笠原正典, 吉木 敬. HTLV-I 持続感染ラットの脊髄症発症における Neuronal IFN- γ の役割. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006.
36. 桂田武彦, 外丸詩野, 鈴木 昭, 石津明洋, 古川 滋, 武田宏司, 田中淳司, 浅香正博, 笠原正典. 潰瘍性大腸炎患者の末梢血 T リンパ球における抑制性 NK レセプター発現の検討. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006.
37. 道又理恵, 尾川直樹, 石津明洋, 外丸詩野, 鈴木 昭, 笠原正典, 吉木 敬. 子宮頸部病理検体において検出される HPV ジェノタイプと臨床病理学的因子の関連. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006.
38. 石津明洋, 宮武由甲子, 外丸詩野, 池田 仁, 鈴木 昭, 笠原正典, 中村仁志夫, 吉木 敬. HAM ラット病の発症には神経細胞における IL-12 を介した IFN-g の産生不応答が関与する. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会, 岡山 2006.
39. 石津明洋, 佐々木直美, 外丸詩野, 笠原正典, 吉木 敬. 血管炎惹起性ラット T 細胞の樹立と解析. 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会 長崎 2006.
40. 石津明洋. 関節リウマチと CREB. 第 34 回日本臨床免疫学会総会, 東京 2006.
41. Baba T, Iwasaki S, Katsumata K, Tomaru U, Kasahara M, Ishizu A. CD4/CD8 double-positive monocyte/macrophages: a subpopulation of the macrophage/dendritic cell lineage with a cytotoxic phenotype. 日本免疫学会総会・学術集会, 大阪 2006.
42. Kajikawa M, Baba T, Tomaru U, Maenaka K, Ishizu A. Kasahara M. MHC class I-like MILL molecules are β 2-microglobulin-associated, GPI-anchored glycoproteins that do not require TAP for cell surface expression. 日本免疫学会総会・学術集会, 大阪 2006.
43. 富居一範, 吉田 繁, 宮武由甲子, 鈴木 昭, 石津明洋, 外丸詩野, 笠原正典. 新たなマウス NKG2D ligand 様分子の同定とその機能に関する解析. 日本免疫学会総会・学術集会, 大阪 2006.
44. 鬼丸満穂, 米満吉和, 藤井孝明, 居石克夫. 血管内皮細胞の Angiopoietin(Ang)-2 発現における Ang-1/Tie-2 シグナルの役割 第 14 回日本血管生物医学会 2006 年 12 月 13 日~15 日 東京
45. 藤井孝明, 米満吉和, 鬼丸満穂, 居石克夫. 糖尿病性血管障害マウス虚血下肢のスタチン投与による血流改善効果 第 14 回日本血管生物医学会 2006 年 12 月 13 日~15 日 東京
46. Okano S, Kondo H, Yonemitsu Y, Inoue M, Hasegawa M, Sueishi K The roles of CD4 T-cells in tumor immunotherapy using Sendai viral vector (SeV)-transfected dendritic cells (DC) 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会 2006 年 12 月 11 日~13 日 大阪
47. 近藤晴彦, 岡野慎士, 米満吉和, 居石克夫 B16メラノーマ移植マウスモデルにおける同種異系樹状細胞による抗腫瘍効果の検討 第 36 回日本免疫学会総会・学術集会 2006 年 12 月 11 日~13 日 大阪
48. Sueishi K Toward the recognition of the pathophysiological role of plaque instability
49. 第 6 回日本心血管カテーテル治療学会学術集会 2006 年 11 月 23 日~25 日 広島
50. 藤井孝明, 米満吉和, 鬼丸満穂, 居石克夫 FGF-2 による機能的血管新生における内因性 VEGF, PlGF 連携の検討 第 29 回日本血栓止血学会学術集会 2006 年 11 月 16 日~18 日 栃木
51. 鬼丸満穂, 米満吉和, 藤井孝明, 居石克夫. 血管内皮細胞の

- Angiopoietin(Ang)-2 発現における Ang-1/Tie-2 シグナルの役割 第 29 回日本血栓止血学会学術集会 2006 年 11 月 16 日~18 日 栃木
52. 藤井孝明、米満吉和、鬼丸満穂、居石克夫 マウス下肢虚血に対する FGF-2 遺伝子治療における内因性 VEGF、PlGF の検討 第 47 回日本脈管学会総会 2006 年 10 月 20 日~22 日 神戸
53. 中野敏昭、米満吉和、岡野慎士、居石克夫 血管新生因子 VEGF family による動脈硬化進展に関する病態学的研究 第 47 回日本脈管学会総会 2006 年 10 月 20 日~22 日 神戸
54. 鬼丸満穂、米満吉和、藤井孝明、居石克夫 血管内皮細胞の Angiopoietin(Ang)-2 発現における Ang-1/Tie-2 シグナルの役割 第 47 回日本脈管学会総会 2006 年 10 月 20 日~22 日 神戸
55. 藤井孝明、住吉真治、古賀孝臣、西坂真里、居石克夫 心タンポナーゼを呈し、大動脈炎との鑑別を要した大動脈弁輪拡張症の 1 剖検例 第 11 回血管病理研究会 2006 年 10 月 14 日 東京
56. Sueishi K Atherosclerosis as an inflammatory process -The pathophysiological implication of angiogenesis in atherosclerosis progression- The 8th Biennial APECSA Congress 2006 年 8 月 28 日~30 日 Tanzania
57. 藤井孝明、米満吉和、鬼丸満穂、居石克夫 FGF-2 誘導機能的血管新生における内因性 VEGF・PlGF 連携の検討 第 38 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2006 年 7 月 13 日~14 日 東京
58. 中野敏昭、米満吉和、居石克夫 血管新生関連因子 VEGF-A, VEGF-C の動脈硬化進展に関する病態学的研究 第 38 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2006 年 7 月 13 日~14 日 東京
59. 竜田恭介、田尻達郎、岡野慎士、柴田智子、井上誠、長谷川護、米満吉和、居石克夫、田口智章 センダイウイルスにより活性化された樹状細胞による抗腫瘍免疫治療の開発(続報) 第 43 回日本小児外科学会総会 2006 年 6 月 7 日~9 日 秋田
60. 松浦理城、鬼丸満穂、米満吉和、藤井孝明、中野敏昭、白砂兼光、居石克夫 口腔扁平上皮癌における VEGF-C/VEGFR3(FLT-4) オートクラインループの病態学的意義 第 95 回日本病理学会総会 2006 年 4 月 30 日~5 月 2 日 東京
61. 鬼丸満穂、米満吉和、谷井貢、中野敏昭、向野利一郎、藤井孝明、居石克夫 マウス虚血下肢への FGF-2 遺伝子導入における VEGF-C/FLT-4 連関ならびに PDGF-BB/PDGFR- β 連関のパラクライン的相互作用 第 95 回日本病理学会総会 2006 年 4 月 30 日~5 月 2 日 東京
62. Nozu T, Matsumura M, Nagao T, Kobayashi M, Okawara A, Hasegawa A, Nakayama T, Nagai A, Suzuki K Function of the primary pulmonary endothelial cells associated with activated neutrophils. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006.
63. Kobayashi M, Matsumura M, Nagano T, Hoshino A, Okawara A, Aratani Y, Minamitani H, Suzuki K Glomerular endothelial cell activation in vasculitis Induced by anti-myeloperoxidase antibody and activated neutrophils. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006.
64. Tachikawa H, Okawara O, Suzuki K Contribution of the systemic, splenic, and renal Th2 responses to the developing glomerulonephritis in NCA-associated crescent-forming glomerulonephritis mice. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006.
65. Tomizawa K, Suzuki R, Tanokura M, Suzuki K Analysis of MPO-ANCA Binding Site of MPO Molecule Surface Regions. June 18-23, 2006.
66. Hoshino A, Nagao T, Tokunaka K, Okawara A, Ihara T, Uno K, Muso E, Miura N, Ohno N, Yasuhara M, Yamamoto K, Suzuki K Myeloperoxidase (MPO) on Activation Neutrophils and anti-MPO Antibody involve the Initiation of Glomerulonephritis and Vasculitis induced by Candida albicans Glycoprotein. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006.
67. Aratani Y, Kura F, Watanabe H, Akagawa H, Takano Y, Okawara A, Suzuki K, Maeda N, and Koyama H. In vivo role of myeloperoxidase for the host defense against fungal infection. 20th Int. Cong. Biochem. and Mol. Biol., Kyoto, June 18-23, 2006.
68. 永井厚志、近藤光子、野津朋子、鈴木和男 間質性肺炎における ANCA 陽性例の Prevalence と病態 第 103 回日本内科学会総会・年次講演会(横浜) 4 月 14-16 日. 2006.
69. 太刀川仁、Mahmoud Ramadan、小玉 誠、大川原明子、三間 渉、伊藤正洋、柏村健、広野 暁、鈴木和男、相澤義房 冠動脈疾患患者における MPO-ANCA の挙動 第 103 回日本内科学会総会・年次講演会(横浜) 4 月 14-16 日, 2006.
70. 荒谷康昭、倉文明、渡辺治雄、高野幸枝、大川原明子、鈴木和男、小山秀機 クリプトコッカス感染防御におけるミエロペルオキシダーゼの関与 第 27 回関東医真菌懇話会(東京) 5 月 27 日, 2006.

71. 鈴木和男 活性化好中球とMPO-ANCAによる糸球体内皮細胞傷害 第49回日本腎臓学会学術総会 シンポジウム「ANCA関連血管炎の病理と臨床」(東京) 6月14-16日, 2006.
72. 小林美登里、松村実実子、長尾朋和、荒谷康昭、星野昭芳、大川原明子、山本健二、南谷晴之、鈴木和男 血管炎発症に関わるMPO-ANCAは直接糸球体内皮細胞へ作用する 第17回日本生体防御学会学術集会(札幌) 7月27-29日, 2006.
73. 荒谷康昭、倉文明、渡辺治雄、赤川久義、高野幸枝、大川原明子、鈴木和男、小山秀機 クリプトコッカス感染防御におけるMPO-H2O2-Cl⁻系の関与 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
74. 原田敏江、三浦典子、安達禎之、Keiko Ozato、鈴木和男、大野尚仁 CAWS血管炎におけるIRF-8の役割 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
75. 大川原明子、三浦典子、大原関利章、高橋啓、岡田秀親、大野尚仁、鈴木和男 CAWS培養条件の違いによる好中球活性化への影響 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
76. 三浦典子、安達禎之、大原関利章、高橋啓、大川原明子、鈴木和男、大野尚仁 各種マウス系統を用いたCAWS血管炎発症に関わる遺伝的素因の解析 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
77. 駒井元彦、高野雄介、三浦典子、安達禎之、鈴木和男、大野尚仁 CBA/J, CBA/NマウスにおけるCAWS血管炎の検討 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
78. Suzuki K, Nauseef W ミエロペルオキシダーゼ(MPO)の生体防御における役割 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
79. 高橋啓、大原関利章、山田仁美、三浦典子、大野尚仁、村山研、野津朋子、松村実実子、大川原明子、鈴木和男、新井孝夫、荒谷康昭 CAWS誘発血管炎モデルにおける合成免疫グロブリン(SyIG)の血管炎抑制作用 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
80. 星野昭芳、猪原登志子、宇野賀津子、武曾恵理、山本健二、鈴木和男 抗MPO抗体誘導マウス全身血管炎モデルにおける活性化好中球からのサイトカイン産生 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
81. 富澤一夫、大川原明子、雑賀寛、田之倉優、鈴木和男 急性進行性糸球体腎炎モデルSCG/KjマウスのMPO-ANCA病因エピトープは治療により減少する 第12回MPO研究会(大阪) 9月22-23日, 2006.
82. 星野昭芳、山本健二、鈴木和男 抗MPO自己抗体誘導マウス全身血管炎モデルにおける抗体の挙動を蛍光ナノ粒子標識QD抗MPO抗体でイメージングする 第15回バイオイメージング学会(盛岡) 10月31-11月2日, 2006.
83. Ishida-Okawara A., Nagi-Miura N., Oharaseki T., Takahashi K., Okada H., Ohno N., and Suzuki K. Neutrophil Activation by CAWS in Different Cultured Condition」(CAWS調整時の異なった菌の培養条件による好中球活性化の相違) 第36回日本免疫学会総会・学術集会(大阪) 12月11-13日, 2006.
84. Hoshino, A., Okawara, A., Yamamoto, K., and Suzuki K. 星野昭芳、大川原明子、山本健二、鈴木和男 Activated neutrophils produce IL-17 and IL-23 by MPO-ANCA in Candida albicans-derived mannoprotein-induced murine systemic (カンジダ由来マンノプロテイン誘導のマウス全身性血管炎におけるMPO-ANCAによって活性化された好中球がIL-17とIL-23を産生) 第36回日本免疫学会総会・学術集会(大阪) 12月11-13日, 2006.
85. 三浦典子、安達禎之、大原関利章、高橋啓、大川原明子、鈴木和男 CAWS血管炎の発症と重篤かに関わる遺伝的素因の各種マウス系統を用いた解析 第36回日本免疫学会総会・学術集会(大阪) 12月11-13日, 2006.
86. 土屋尚之: リウマチ性疾患の遺伝的素因。第42回宮城リウマチ外科研究会特別講演、2006年2月18日、仙台
87. 土屋尚之: 遺伝子多型解析に基づく全身性エリテマトーデス発症分子機序の検討(シンポジウム) 第50回日本リウマチ学会、2006年4月23日~26日、長崎
88. 宮下リサ、土屋尚之、小林茂人、橋本博史、尾崎承一、徳永勝士: 顕微鏡的多発血管炎(MPA)の疾患感受性におけるKIR(killer cell Ig-like receptor)-HLA遺伝子間相互作用の検討 第50回日本リウマチ学会、2006年4月23日~26日、長崎
89. 人見祐基、土屋尚之、長谷川稔、藤本学、竹原和彦、佐藤伸一、徳永勝士: ヒトCD22遺伝子多型と全身性強皮症との関連 第50回日本リウマチ学会、2006年4月23日~26日、長崎
90. 川崎綾、古川宏、土屋尚之、草生真規雄、深沢徹、松多邦雄、橋本博史、小野栄夫、徳永勝士: SH2D1A (SLAM-associated Protein) 遺伝子多型と若年発症全身性エリテマトーデスの関連 第50回日本リウマチ学会、2006年4月23日~26日、長崎
91. 古谷武文、市川奈緒美、箱田雅之、樋上謙士、南家由紀、八子徹、小橋川剛、土屋尚之、徳永勝士、鎌谷直之、小竹茂: 早期RA患者における骨破壊の進行とHLA-DRB1遺伝子型および抗CCP抗体との関連 第50回日本リウマチ学会、2006年4月23日~26日、長崎

92. 土屋尚之 : ヒト免疫系多重遺伝子ファミリーにおける copy number polymorphism と疾患感受性 日本進化学会 2006 年大会シンポジウム「多重遺伝子ファミリーの進化: 遺伝子の生成と消滅のダイナミズム」 2006 年 8 月 29 日~31 日、東京
93. 江原幸和、松下正毅、土屋尚之、柏瀬貢一、宮城徹、松多邦雄、草生真規雄、深沢徹、橋本博史、高崎芳成、佐竹正博、岡孝紀、徳永勝士: 蛍光ビーズ法を用いた新規タイピングシステムによる IL-10 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討 日本組織適合性学会 2006 年 9 月 24~26 日、東京
94. 土屋尚之 : 遺伝子解析に基づくリウマチ・膠原病の病因・病態解析 日本人類遺伝学会シンポジウム 2006 年 10 月 17~20 日、米子
95. 江原幸和、松下正毅、土屋尚之、柏瀬貢一、宮城徹、松多邦雄、草生真規雄、深沢徹、橋本博史、高崎芳成、佐竹正博、岡孝紀、徳永勝士: 蛍光ビーズ法を用いた新規タイピングシステムによる IL-10 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討 日本人類遺伝学会 2006 年 10 月 17~20 日、米子
96. Furuya T, Hakoda M, Ichikawa N, Higami K, Nanke Y, Yago T, Kobashigawa T, Inoue E, Tsuchiya N, Tokunaga K, Kamatani K, Kotake S. Differential association of HLA-DRB1 alleles in Japanese patients with early rheumatoid arthritis in relationship to autoantibodies to cyclic citrullinated peptide. American College of Rheumatology 2006 Annual Scientific Meeting.
97. Kawasaki A, Tsuchiya N, Kyogoku C, Hashimoto H, Takasaki Y, Behrens, T.W., Tokunaga K. Association of interferon regulatory factor 5 (IRF) SNPs with systemic lupus erythematosus in Japanese. 2006 年日本免疫学会総会、2006 年 12 月 11~13 日、大阪
98. 江原幸和、土屋尚之、松多邦雄、橋本博史、高崎芳成、徳永勝士: 蛍光ビーズ法を用いた新規タイピングシステムによる IL-10 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討。2006 年日本免疫学会総会、2006 年 12 月 11~13 日、大阪
99. Kawamoto A, Safety and Efficacy Is Sustained Up To One Year after Transplantation of Autologous CD34+ Cells in No-Option Patients with Chronic Critical Limb Ischemia. *Ame Heart Association Scientific Meeting* 2006.
100. 岩井武尚. 会長要望演題 1 Burger 病トピックス「バージャー病を追いつめる」。第 34 回日本血管外科学会総会。東京, 2006. 5. 11-12.
101. Chen Z, Inoue Y, Iwai T, Kurihara N, Jibiki M, Li X, Kubota T, Sugano N, Huang Y, Umeda M, Ishikawa I. Arterial thrombosis after intravenous infusion of Periodontal Bacteria in a rat model (2nd report). The 34th Annual meeting of Japanese society for vascular surgery.-The 3rd International session-. Tokyo, 2006. 5. 11.
102. Chen Y, Umeda M, Huang Y, Takeuchi Y, Kurihara N, Inoue Y, Iwai T. Elevated serum IgG antibody levels to Periodontal pathogens in patients with Burger disease. The 34th Annual meeting of Japanese society for vascular surgery.-The 3rd International session-. Tokyo, 2006. 5. 11.
103. Li X, Iwai T, Nakamura H, Inoue Y, Huang Y, Chen Y, Umeda M, Ishikawa I. Interaction of Porphyromonas gingivalis with human platelets and neutrophils: ultrastructural observations. The 52nd Annual congress of the Japan section. Tokyo, 2006. 6. 3.
104. Li X, Iwai T, Nakamura H, Inoue Y, Huang Y, Chen Y, Umeda M, Ishikawa I. The role of platelets in Buerger's disease. 第 31 回日本外科系連合学会。金沢, 2006. 6. 22-23.
105. Iwai T, Inoue Y, Kurihara N, Li X, Chen Z, Umeda M, Chen Y, Huang Y, Ishikawa I, Nakamura H, Kimura A. Comprehensive investigations into the etiology of Buerger disease. XXII World congress of the International union of angiology. Lisbon, 2006. 6. 24-28.
106. Li X, Iwai T, Nakamura H, Inoue Y, Huang Y, Chen Y, Umeda M, Ishikawa I. The Role of platelet-bacterial interaction in Buerger's disease. 7th International congress of the Asian society for vascular surgery. Kuala Lumpur, 2006. 7. 16-19.
107. Li X, Asahina M, Inoue Y, Iwai T, Nakamura H. Ultrastructural study of the arteries in Buerger's disease. The 8th National congress of vascular surgery of China. Shenyang, China. 2006. 9. 1-3.
108. Miyamoto, M., G. Takagi, S. Tara, H. Ohtsubo, *H. Mizuno, H. Takano & T. Takano Excellent combination therapy of maggot debridement therapy (MDT) and bioartificial dermis with therapeutic angiogenesis and/or autograft skin transplamtation 6th International Congress of Dipterology Fukuoka, Japan, 23-28 September 2006
109. 宮本正章 安武正弘 高野照夫 他 第 31 回日本外科系連合学会総会 シンポジウ

- ム末梢動脈疾患に対する血管新生療法 (果たしてその効果は?) 重症難治性虚血肢に対する血管新生療法 骨髓細胞、徐放化蛋白による総合的治療戦略 2006
110. Gen Takagi, Masaaki Miyamoto, Teruo Takano et al A Novel Therapy Using Control-Released Basic Fibroblast Growth Factor in Patients with Peripheral Artery Disease: Comparison with Bone Marrow Mononuclear Cell Implantation. The 79th AHA 2006. 11. 12 ~15.
 111. 中川彩、青木下邦、森下竜一。「HGF・PGIS 遺伝子を用いた random pattern flap 生着率の向上」第 15 回日本形成外科学会基礎学術集会 2006 年 10 月 12 日
 112. 中川彩、青木下邦、森下竜一。「創傷治療・難治性潰瘍に対する局所遺伝子導入法を用いた分子治療法の開発」第 15 回日本形成外科学会基礎学術集会 2006 年 10 月 12 日
 113. 中林公正、他：MPO-ANCA 関連血管炎の臨床病型と生命予後・死因の臨床的解析. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006. 4. 23. ~26.
 114. 森 由紀子、中林公正、他：当院における Churg-Strauss 症候群 11 例の臨床的検討. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006. 4. 23. ~26.
 115. 軽部美穂、中林公正、他：MPO-ANCA 関連血管炎に骨髓異形成症候群(MDS)を合併した 3 例の検討. 第 50 回日本リウマチ学会総会、長崎、2006. 4. 23. ~26.
 116. Nakabayashi K, et al: Different pathological mechanisms of tubulointerstitial nephritis between ANCA-associated nephritis and drug-induced tubulointerstitial nephritis: study with immunohistochemical staining. 2006 American Society of Nephrology Meeting, San Diego, 2006. 11. 16~19.
 117. 吉原 堅、中林公正 他：MPO-ANCA 関連血管炎の寛解期における ANCA 値再上昇の意義に関する検討. 第 49 回日本腎臓学会総会、東京、2006. 6. 14~16.
 118. 多田久里守、池田 真、田村直人、高崎芳成、木田一成、橋本博史、小林茂人、井上 久. 強直性脊椎炎におけるインフリキシマブの有効性について. 第 16 回日本脊椎関節炎研究会 平成 18 年 9 月 9 日 奈良
 119. 小林茂人. 扁桃炎と反応性関節炎、扁桃シンポジウム：扁桃と病巣感染—他科との連携—第 19 回日本口腔・咽頭科学学会総会、2006 年 9 月 7 日 東京
 120. 木田一成、小林茂人、橋本博史、健康食品服用後に多関節炎を発症した 2 症例. 第 47 回埼玉リウマチ研究会. 平成 18 年 7 月 7 日 埼玉
 121. 平島美賀、松平蘭、池田真、金田和彦、森本真司、田村直人、深沢徹、小林茂人、高崎芳成、橋本博史. リツキシマブを投与した難治性ウェゲナー肉芽腫症の 2 症例. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2006.
 122. 守田貴浩、小林茂人、山路健、田村直人、高崎芳成、橋本博史. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2006.
 123. 田村直人、春田和彦、小林茂人、橋本博史. 関節リウマチの病態解析 ホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ阻害剤の関節炎モデルに対する抑制作用. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2006.
 124. 宮下リサ、土屋尚之、小林茂人、橋本博史、尾崎承一、徳永勝士. 顕微鏡的多発血管炎(MPA)の疾患感受性における KIR(killer cell Ig-like receptor)-HLA 遺伝子間相互作用の検討. 日本リウマチ学会総会・学術集会 2006.
 125. F. Furukawa, T. Yoshimasu, Y. Yamamoto, R. Paus, T. Ito, A. Hiroi: Male New Zealand Black/KN mice: a novel model for lupus-associated alopecia, The International Congress "SKIN, RHEUMATISM AND AUTOIMMUNITY", Feb 2-4, 2006, Abano Terme (Padova) Italy
 126. Ohtani T, Furukawa F: Cyclophosphamide enhances TNF- α -induced apoptotic cell death in murine vascular endothelial cell. International Symposium of Adverse Drug Reaction (ADR) in Yokohama, Feb 9-10, 2006, Yokohama
 127. Yoshimasu T, Nishide T, Furukawa F: Histamine receptor (HR1, HR2, HR3) profiles in skin lesions of MRL/lpr mice. Annual Meeting Society for Investigative Dermatology, May 3-6, 2006, Philadelphia
 128. Furukawa F: Drug-induced photosensitive lupus erythematosus, International Symposium on Photomedicine, Gwangju, Korea, Sep 14-16, 2006
 129. 古川福実、吉益隆、山本有紀、中村智之、廣井彰久、金澤伸雄、伊藤泰介: New Zealand Black/KN雄マウスの脱毛は非可逆性で自己免疫性である、第38回日本結合織学会、2006. 5. 11-12、前橋
 130. 大谷稔男、中村智之、戸田憲一、古川福実: シクロホスファミドはTNF- α が惹起する血管内皮細胞株F-2のアポトーシスを助長する. 日本研究皮膚科学会第31回年次学術大会・総会、2006. 5. 31-6. 2、京都
 131. 吉益 隆、西出武司、古川福実: ヒスタミンレセプターはMRL/lprマウスの皮疹発症に関与する. 日本研究皮膚科学会第31回年次学術大会・総会、2006. 5. 31-6. 2、京都
 132. 中村智之、廣井彰久、古川福実、伊藤泰介、伊藤雅章: New Zealand Black/KNマウス皮膚に沈着する免疫グロブリンの病因的意義. 第105回日本皮膚科学会総会、

2006. 6. 2-4、京都
133. 廣井彰久、伊藤泰介、伊藤雅章、古川福実：New Zealand Black/KN雄マウスの脱毛は非可逆性で自己免疫性である。第105回日本皮膚科学会総会、2006. 6. 2-4、京都
134. 吉益 隆、西出武司、古川福実：薬剤性ループスエリテマトーデスの皮疹発症に関与するT細胞亜集団、第105回日本皮膚科学会総会、2006. 6. 2-4、京都
135. 中村智之、金澤伸雄、山本有紀、古川福実：皮膚型結節性多発動脈炎は独立疾患か？和歌山県立医科大学における症例の検討、第36回日本皮膚アレルギー学会総会・第31回日本接触皮膚炎学会総会合同学術大会、2006. 7. 15-16、兵庫
136. 吉益 隆、金澤伸雄、古川福実：薬剤性DLEモデルにおけるヒスタミンレセプターの関与、第36回日本皮膚アレルギー学会総会・第31回日本接触皮膚炎学会総会合同学術大会、2006. 7. 15-16、兵庫
137. 中村智之、金澤伸雄、山本有紀、古川福実：皮膚型結節性多発動脈炎の位置づけに関する検討、第397回日本皮膚科学会大阪地方会和歌山地区会、2006. 9. 23、和歌山
138. 古川福実：膠原病の皮膚潰瘍について、和歌山皮膚再生治療研究会、2006. 9. 30、和歌山
139. 中村智之、廣井彰久、古川福実：New Zealand Black/KN雄マウスの脱毛は非可逆性で自己免疫性である、第34回日本臨床免疫学会総会、2006. 10. 2-3、京都
140. 吉益 隆、西出武司、金澤伸雄、古川福実：ループスエリテマトーデスマウスの皮膚病変におけるヒスタミン受容体の発現とその意義、第56回日本アレルギー学会秋期学術大会、2006. 11. 2-4、東京
141. 金澤伸雄、中村智之、山本有紀、古川福実：皮膚型結節性多発動脈炎の位置づけに関する検討、第56回日本アレルギー学会秋期学術大会、2006. 11. 2-4、東京
142. Yoshimasu T, Kanazawa N, Furukawa F: Expression of histamine receptors in drug-induced cutaneous LE model、日本免疫学会・学術集会、2006. 12. 11-13、大阪
143. 中村智之、金澤伸雄、山本有紀、古川福実：皮膚型結節性多発動脈炎の疾患概念と診断基準に関する検討、第30回皮膚脈管膠原病研究会、2007. 1. 25-26、横浜
144. 浅田 麻紀、佐田 憲映、戸田 直美、前島 洋平、杉山 斉、榎野 博史 ANCA 関連血管炎患者における動脈硬化の検討 第49回日本腎臓学会学術総会 平成18年6月14日～16日 東京
145. 板橋美津世、湯村和子他：ANCA 関連腎炎の病理学的検討 第49回日本腎臓学会総会 日本腎臓学会誌、48;263, 2006
146. 湯村和子、板橋美津世：ANCA 関連血管炎におけるステロイド治療の有用性 第49回日本腎臓学会総会 日本腎臓学会誌：48；157, 2006
147. 小松八千代、深谷修作、片山雅夫、吉田秀雄、吉田俊治：膠原病性肺高血圧症の合併率と自然経過。日本リウマチ学会総会、2006. 長崎
148. 片山雅夫、玉熊桂子、吉田秀雄、吉田俊治：混合性結合組織病(MCTD)の肺高血圧症(PH)における抗 phosphatidylserine-prothrombin 複合体(PS/PT)抗体の臨床的意義についての検討。日本リウマチ学会総会、2006. 長崎
149. 吉田秀雄、玉熊桂子、吉田俊治：MCTDにおける抗血管内皮細胞抗体の検討。日本臨床免疫学会総会、2006. 東京
150. 山田秀裕：血管障害. 第34回日本臨床免疫学会総会. 2006. 10. 3 東京

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

〔Ⅲ〕

分科会報告 分担研究報告

【病理・基礎研究分科会】

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

病理・基礎研究分科会報告書

血管炎の発症、進展に係わるゲノム・遺伝子・タンパク質に関する研究 2006

分科会長	能勢眞人	愛媛大学大学院医学系研究科ゲノム病理学分野	教授
	石津明洋	北海道大学医学部保健学科病理形態機能学分野	助教授
	加藤智啓	聖マリアンナ医科大学大学院医学研究科 臨床プロテオーム制御学	助教授
	居石克夫	九州大学大学院医学研究院病理病態学	教授
	鈴木和男	国立感染症研究所生物活性物質部	室長
	土屋尚之	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会健康医学分野	教授
研究協力者	高橋 啓	東邦大学医学部付属大橋病院病理学	助教授
	吉木 敬	株ジェネティックラボ	代表取締役

研究要旨

昨年度スタートした3年間の活動計画である、①モデル動物による血管炎の病理発生の解析、②血管炎の発現遺伝子の網羅的解析、③血管炎感受性遺伝子のゲノム解析、④新たな自己抗体、自己抗原の探索、⑤候補遺伝子のタンパク質合成、⑥臨床研究への展開、の6項目について、今年度の目標である「推進と連携、そして形あるものを」を重視し計画を遂行した。

特に、①においては、1) 血管炎惹起性ラットT細胞の作用機序と発現解析、2) 糸球体内皮細胞障害におけるMPO-ANCAの直接作用、②では、ANCA関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトーム解析、③では、1) 顕微鏡的多発血管炎での*LILRA2*、*IRF5* 遺伝子多型の関連解析、2) 糸球体腎炎の位置的候補遺伝子としての*Cd59* 多型の同定、④では、1) ヒト抗血管内皮細胞自己抗体対応抗原と血管炎関連ペプチドの網羅的解析、2) 膠原病関連組換え近交系マウスを用いた血管炎関連自己抗体の探索、⑤では、血管炎関連抗原の組換えタンパク質の合成、⑥では、重症虚血下肢に対する遺伝子治療に関する基礎的研究、を遂行した。

下の活動計画（2005-2007）、

A. 研究目的

当分科会は、活動方針であるところの、

1) 血管炎モデル動物の解析とヒト血管炎への提言、2) 血管炎におけるゲノミクス、プロテオミクス研究、3) 血管炎原因遺伝子の同定と応用、に沿って、以

1. モデル動物による血管炎の病理発生の解析
2. 血管炎の発現遺伝子の網羅的解析
3. 血管炎感受性遺伝子の解析
4. 新たな自己抗体、自己抗原の探索
5. 候補遺伝子のタンパク質合成

6. 臨床研究への展開
を立案し、遂行している。

これらの中で、今年度遂行した成果の概要を下記にまとめた。詳細は、各分担研究者、研究協力者報告の項に記載した。

B. 研究方法
各分担者報告の項参照
(倫理面への配慮)
各分担者報告の項参照

C. 研究結果

1. モデル動物による血管炎の病理発生
の解析：

1) 血管炎惹起性ラット T 細胞の作用機序と発現解析 (石津、吉木、他)

壊死性血管炎を発症する、ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) の env-pX 遺伝子を導入したトランスジェニックラット (env-pX ラット) から樹立した血管内皮細胞に反応する T 細胞株 PC4 は、限られた TCR V β を使用するオリゴクローナルな Th1 タイプの CD4 T 細胞で、wild-type ラットへの静注で、肺に血管病変を誘導した。その機序を明らかにするため、PC4 と血管内皮細胞との共培養の実験から、PC4 細胞自身が抗原提示細胞として機能し、かつ自己反応性に増殖していると考えられた。

また、env-pX ラットで自己血管反応性 T 細胞が出現するメカニズムを明らかにするため、env-pX ラットと wild-type ラットの胸腺フレームワークのトランスクリプトーム解析を行い、いくつかの候

補遺伝子を見出した。

2) 糸球体内皮細胞障害における MPO-ANCA の直接作用 (鈴木、他)

ANCA 陽性の急速進行性糸球体腎炎の炎症初期に起こる血管傷害に機構における MPO-ANCA の役割を明らかにするため、マウス糸球体血管内皮細胞の初代培養を用いて、好中球ならびに MPO-ANCA の糸球体内皮細胞への作用を解析した。

MPO-ANCA は、好中球への作用に加え、直接血管内皮細胞にも結合して ICAM-1 の発現を上昇させ、ケモカインを放出することを新たに見出した。

2. 血管炎の発現遺伝子の網羅的解析：

ANCA 関連血管炎末梢血のトランスクリプトーム解析 (石津、吉木、他)

治療前および治療開始後 1 週間で末梢血の遺伝子発現を網羅的に解析した ANCA 関連血管炎 20 症例について、その後の臨床経過を調査し、治療に対し有意に反応性を示す遺伝子のトランスクリプトーム解析を行った。その中で、59 遺伝子が治療後に減少し、一方 15 遺伝子が増加していた。これらの遺伝子についての ANCA 関連血管炎での病態への関与、および治療の効果判定における有意性を検討した。

3. 血管炎感受性遺伝子のゲノム解析：

1) 顕微鏡的多発血管炎での LILRA2、IRF5

遺伝子多型の関連解析(土屋)

日本人顕微鏡的多発血管炎(MPA)疾患感受性遺伝子の探索の中で、HLA-DRB1*0901-DQB1*0303 ハプロタイプ、抑制シグナルが優位になると予想されるKIR/HLA-class I 遺伝子型の組み合わせとの関連を見出し、感染抵抗性減弱がMPA発症の一つの遺伝素因となるのではないかとの仮説を提唱した。この仮説をさらに検討するために、感染制御、自己免疫の両面における機能的な重要性が指摘されているI型インターフェロンの産生制御に関連する*IRF5*の多型、また、KIRとともにleukocyte receptor complexに位置する多重遺伝子ファミリーであるleukocyte immunoglobulin-like receptor (LILR)の*LILRA2*とMPAとのについての関連解析を行った。

2) 糸球体腎炎の位置的候補遺伝子としての*Cd59*多型の同定(能勢、他)

MRL/lpr マウスとの遺伝距離が約100万年離れている、日本の野生マウスに由来するMSM/Ms マウスとの交配を通じて、糸球体腎炎に抵抗性を示す位置的候補遺伝子*Cd59*を同定した。プロモーター多型がその発現量を規定しており、MSM型では糸球体でのその遺伝子発現量が促進されていた。*Cd59*は補体制御因子であり、過度のMAC産生を抑制する機能を有するところから、糸球体での補体活性化を抑制することにより、腎炎の発症を抑制するものと考えられた。

4. 新たな自己抗体、自己抗原の探索:

1) ヒト抗血管内皮細胞自己抗体対応抗原と血管炎関連ペプチドの網羅的解析(加藤)

HUVEC抽出タンパク質を抗原とし、2次元ウエスタンブロッティングによる各種血管炎患者血清中の抗内皮細胞抗体の対応抗原の質量分析による同定を行った。

MPA患者血清中に存在する小ペプチドを、質量分析器を用いて網羅的に検出し、MPAで優位に存在するペプチドを同定した。

2) 膠原病関連組換え近交系マウスを用いた血管炎関連自己抗体の探索(能勢、他)

膠原病関連組換え近交系マウスMXH/lpr15系統は、血管炎を含め、それぞれ種々の異なった膠原病病態を示すが、個々の系統の血清中の自己抗体について、無細胞系による抗原タンパク質合成とAlphaScreen法とを組み合わせたhigh through-putな新規検出法を確立した。その結果、30種以上の新規自己抗体が検出でき、また、対応抗原のクラスター解析により、その一部に、特定の膠原病病態との関連が認められた。

5. 候補遺伝子のタンパク質合成:

血管炎関連抗原の組換えタンパク質の合成(能勢、加藤、他)

無細胞系タンパク質合成法により、網

羅的に自己抗体対応抗原の組換えタンパク質の合成を行うとともに、血管炎患者血清中の血管内皮細胞抽出タンパク質と反応する自己抗体の対応抗原の組換えタンパク質の合成を行った。

6. 臨床研究への展開：

重症虚血下肢に対する遺伝子治療に関する基礎的研究（居石、他）

厚労省の厚生科学審議会遺伝子治療臨床研究作業部会において SeV/dF-hFGF-2 を用いた臨床実施に対する臨床実施が承認されたことにより、6月より臨床試験が開始されたが、虚血組織における FGF-2 の機能的血管新生機構に関して、新たに MCP-1 の役割を明らかにした。

D. 考察

血管炎の発症機序は大まかに induction phase と effector phase に大別出来る。2006 年度の成果としては、induction phase に係わる遺伝子として、*KIR* とともに leukocyte receptor complex に位置する *LILRA2*、ならびに I 型インターフェロンの産生制御に係わる *IRF5* の遺伝子多型が、MPA との関連解析の中で、明らかにされた。MPA 特異性については今後の解析となるが、MPA が感染抵抗性の低下によって発症するという作業仮説を支持する結果となった。一方、壊死性血管炎モデルである env-pX ラットにおいて、その発症が T 細胞の成熟過程における胸腺フレームワークに規定されることを示し

てきたが、そこに発現する遺伝子候補がトランスクリプトーム解析により同定された。さらに、この env-pX ラットより樹立した血管炎誘導性 T 細胞が in vitro で血管内皮細胞に反応して増殖する際、自らが抗原提示細胞として機能しているという新たな概念を提示した。

effector phase に係わる遺伝子、タンパク質については、ヒト血管炎患者やモデルマウスに発現する自己抗体を主に展開した。その中で、従来、cytokine sequence theory の中で論じられてきた MPO-ANCA が、in vitro において、腎糸球体内皮細胞に直接作用し、その結果、内皮細胞に ICAM-1 を含む接着分子ならびにケモカインの発現を誘導することを明らかにし、血管障害において MPO-ANCA は、好中球への作用と相加的に作用する可能性を示した。また、直接の effector 分子としての役割は未解決ではあるが、膠原病モデルマウスの組換え近交系マウスを用いての自己抗体の探索において、ゲノムデータベースをもとに無細胞系蛋白質合成を利用して作製した対応抗原のクラスタリング解析から、血管炎に特異的な候補タンパク質を同定した。さらに、血管炎患者血清中の抗 HUVEC 抗体の対応抗原のプロテオーム解析において、いくつかの候補タンパク質を同定し、また、その組換えタンパク質合成による自己抗体診断への応用を図った。一方、抗体以外の effector phase に係わる分子として、補体制御遺伝子である *Cd59* 遺伝子の野生

型マウス *Mus musculus molossinus* 由来のゲノム多型が MRL/lpr マウスの糸球体腎炎に対して強力な抵抗性を示すことを明らかにした。

これらの induction phase や effector phase に係わる新たな概念の提唱や新たな分子の同定に加えて、血管炎の病態を反映する新たな遺伝子、タンパク質を明らかにした。その一つは、ANCA 関連血管炎患者の末梢血の治療前と治療後のトランスクリプトーム解析から、治療に有意に反応する遺伝子であった。さらに、MPA 患者血清中の質量分析に基づく deep proteome 解析により、MPA に優位に出現する小ペプチドを同定した。

本分科会での治療につながる研究では、重症虚血下肢に対する *FGF-2* の遺伝子治療について報告してきたが、その機能的血管新生において、*FGF-2* の下流に位置す

る MCP-1 が重要であることを新たに発見し、MCP-1 レセプターである CCR2 欠損マウスにおいて実証した。

今後は、これらの成果に基づく臨床的応用への展開が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表
各分担者報告の項参照

2. 学会発表
各分担者報告の項参照

G. 知的財産権の出願・登録状況
各分担者報告の項参照

1. 特許取得
各分担者報告の項参照

2. 実用新案登録
各分担者報告の項参照

3. その他
各分担者報告の項参照

血管炎惹起性ラット T 細胞の解析と MPO-ANCA 関連血管炎患者の末梢血
トランスクリプトームに関する研究

分担研究者 石津明洋 北海道大学医学部保健学科検査技術科学専攻 助教授
研究協力者 吉木 敬 株式会社ジェネティックラボ 代表取締役会長

研究要旨

壊死性血管炎を発症する env-pX ラットから自己血管内皮細胞に反応する T 細胞株 PC4 を樹立した。PC4 はオリゴクローナルな Th1 タイプの CD4 T 細胞であった。血管内皮細胞と共培養することによる PC4 の増殖は MHC クラス II に対する抗体により完全に阻害された。しかしながら、この共培養系において血管内皮細胞は MHC クラス II を発現しておらず、抗原提示細胞として機能しているのは PC4 自身であることが明らかとなった。

MPO-ANCA 関連血管炎 20 症例について、治療前および治療開始後 1 週間での末梢血における遺伝子発現を、アフィメトリクス社 DNA チップを用いて網羅的に解析した。治療後に寛解または軽快した 13 例について検討したところ、59 遺伝子が治療後に有意に発現低下を示し、また 15 遺伝子が発現増強を示した。

A. 研究目的

env-pX ラットでは、骨髄由来の T 前駆細胞が導入遺伝子を発現する胸腺で分化成熟する過程において何らかのセレクション異常が生じ、自己免疫性血管炎が発症すると考えられる。env-pX ラットの血管炎における標的分子を明らかにするため、本ラットから自己血管内皮細胞反応性 T 細胞を抽出した。また、本ラットにおいて自己血管反応性 T 細胞が出現するメカニズムを明らかにするため、env-pX ラットと wild-type ラットの間で胸腺フレームワークの網羅的遺伝子発現解析を行った。

MPO-ANCA 関連血管炎の発症および治療応答性に関与する遺伝子を探索するため、患者末梢血を用いて網羅的遺伝子発現解析を実施した。

B. 研究方法

env-pX ラットから自己血管内皮細胞反応性 T 細胞の抽出を試み、オリゴクローナルな Th1 タイプの CD4 T 細胞株 (PC4) を得た。PC4 と血管内皮細胞の共培養系に MHC クラス II に対する抗体を添加し、PC4 の増殖性を検討した。また、PC4 が抗原提示細胞としての機能を持つかどうか

か、フローサイトメトリーや食能試験を行って検討した。さらに、env-pX ラットと wild-type ラットから胸腺フレームワークを採取し、アフィメトリクス社 DNA チップを用いて網羅的な遺伝子発現解析を行った。

MPO-ANCA 関連血管炎 20 症例の治療前および治療後 1 週間の末梢血をサンプルとし、アフィメトリクス社 DNA チップを用いて網羅的な遺伝子発現解析を行った。治療後の予後を調査し、治療後に寛解または軽快が得られた 13 症例について、治療前後での遺伝子発現の変動を解析した。

(倫理面への配慮)

患者検体の採取にあたっては、文部科学省・厚生労働省・経済産業省の掲げる遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき、各々の検体採取機関の倫理委員会の承認を受け、全例インフォームドコンセントを得た。動物実験については北海道大学の動物実験指針に基づいて行った。

C. 研究結果

血管内皮細胞と共培養することによる PC4 の増殖は MHC クラス II に対する抗

体により完全に阻害された。しかしながら、この共培養系において血管内皮細胞はMHCクラスIIを発現していなかった。一方、PC4にはMHCクラスIIやCD80の発現が認められ、また、貪食能も確認された。env-pXラットの胸腺フレームワークでは、wild-typeに比較して476遺伝子が2倍以上の発現を示し、113遺伝子が2分の1以下の発現を示した。

MPO-ANCA関連血管炎20症例の内訳は、治療後に寛解した症例が10例、軽快または改善した症例が3例、感染症を併発した症例が1例、末期腎不全に移行した症例が1例、死亡が3例、不明が1例であった。また、1例は精査の結果、本疾患の診断基準を満たさず除外された。治療後に寛解または軽快した13例について末梢血における遺伝子発現を検討したところ、59遺伝子が治療後に発現が有意に減少し、また15遺伝子については発現が増加した。一方、死亡または増悪した5例については、治療後に統計学的に有意な発現レベルの変化を示す遺伝子は認められなかった。

D. 考察

PC4と血管内皮細胞の共培養系において抗原提示細胞として機能しているのはPC4自身であると考えられた。

MPO-ANCA関連血管炎末梢血トランスクリプトーム解析では、治療後に寛解または軽快が得られた症例において、治療後に発現が減少した遺伝子群にはcell-cell signalingやhost-pathogen interactionに関わる遺伝子が、また増加した遺伝子群にはdefense immunity protein activityやhost-pathogen interactionに関わる遺伝子が多く含まれていた。これらの遺伝子を検索することにより、MPO-ANCA関連血管炎症例の治療に対する反応性や予後を推測することが可能になると考えられる。

E. 結論

1) PC4を用いて血管炎の標的分子を明らかにすることができると考えられ

る。また、env-pXラット胸腺フレームワークのアレイ解析から、自己血管反応性T細胞の出現に関わる分子を抽出可能と考えられる。

2) 治療後に寛解または軽快したMPO-ANCA関連血管炎13症例について、治療前および治療開始後1週間での末梢血における網羅的遺伝子発現解析を行い、MPO-ANCA関連血管炎の治療反応性や予後に関連する遺伝子群を明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Baba T, Ishizu A, Iwasaki S, Suzuki A, Tomaru U, Ikeda H, Yoshiki T, Kasahara M. CD4/CD8 double-positive macrophages infiltrating at inflammatory sites: a population of monocytes/macrophages with a cytotoxic phenotype. *Blood* 107(5): 2004-2012, 2006.
- 2) Miyatake Y, Ikeda H, Ishizu A, Baba T, Ichihashi T, Suzuki A, Tomaru U, Kasahara M, Yoshiki T. Role of neuronal IFN- γ in the development of myelopathy in rats infected with human T-cell leukemia virus type 1. *Am J Pathol* 169(1): 189-199, 2006.
- 3) Kajikawa M, Baba T, Tomaru U, Watanabe U, Koganei S, Tsuji-Kawahara S, Matsumoto N, Yamamoto K, Miyazawa M, Maenaka K, Ishizu A, Kasahara M. MHC class I-like MILL molecule are β 2-microglobulin-associated, GPI-anchored glycoproteins that do not require TAP for cell surface expression. *J Immunol* 177(5): 3108-3115, 2006.
- 4) Abe A, Ishizu A, Fugo K, Ikeda H, Yoshiki T. Articular tissues expressing the env-pX transgene are required for generation of arthritogenic T cells in human T cell leukemia virus type I transgenic rats. *Clin Exp Rheumatol* 24(3): 313-316, 2006.
- 5) Otsuka N, Miyatake Y, Ishizu A, Tanaka S, Yamamoto Y, Ikeda H, Yoshiki T.

Expression of human endogenous retrovirus-R gene links to differentiation of squamous cells. *AIDS Res Hum Retroviruses* 22(11): 1148-1151, 2006.

- 6) Ishizu A, Ooka T, Murakami T, Yoshiki T. Rupture of the thyro-cervical trunk branch from the subclavian artery in a patient with neurofibromatosis: a case report. *Cardiovasc Pathol* 15(3) 153-156, 2006.
- 7) Chen J, Zhao X, Lai Y, Suzuki A, Tomaru U, Ishizu A, Takada A, Ikeda H, Kasahara M, Yoshiki T. Enhanced production of p24 Gag protein in HIV-1-infected rat cells fused with uninfected human cells. *Exp Mol Pathol* (in press)
- 8) Tsuji M, Ikeda H, Ishizu A, Miyatake Y, Hayase H, Yoshiki T. Altered expression of apoptosis-related genes in osteocytes exposed to high-dose steroid hormones and hypoxic stress. *Pathobiology* (in press)

2. 学会発表

- 1) 佐々木直美, 石津明洋, 外丸詩野, 鈴木 昭, 笠原正典, 吉木 敬. 血管炎惹起性ラット T 細胞の樹立と解析. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006
- 2) 馬場智久, 岩崎沙理, 石津明洋, 鈴木 昭, 外丸詩野, 池田 仁, 吉木 敬, 笠原正典. CD4/CD8 double positive マクロファージの抗腫瘍活性の検討. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006
- 3) 外丸詩野, 山野嘉久, 鈴木 昭, 石津宮武由甲子, 石津明洋, 池田 仁, 馬場智久, 鈴木 昭, 外丸詩野, 笠原正典, 吉木 敬. HTLV-I 持続感染ラットの脊髄症発症における Neuronal IFN- γ の役割. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006
- 4) 桂田武彦, 外丸詩野, 鈴木 昭, 石津明洋, 古川 滋, 武田宏司, 田中淳司, 浅香正博, 笠原正典. 潰瘍性大腸炎患者の末梢血 T リンパ球における抑制性 NK レセプター発現の検討. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006
- 5) 道又理恵, 尾川直樹, 石津明洋, 外丸詩野, 鈴木 昭, 笠原正典, 吉木 敬. 子宮頸部病理検体において検出される HPV ジェノタイプと臨床病理学的因子の関連. 第 95 回日本病理学会総会, 東京 2006
- 6) 石津明洋, 宮武由甲子, 外丸詩野, 池田 仁, 鈴木 昭, 笠原正典, 中村仁志夫, 吉木 敬. HAM ラット病の発症には神経細胞における IL-12 を介した IFN- α の産生不応答が関与する. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会, 岡山 2006
- 7) 石津明洋, 佐々木直美, 外丸詩野, 笠原正典, 吉木 敬. 血管炎惹起性ラット T 細胞の樹立と解析. 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会 長崎 2006
- 8) 石津明洋. 関節リウマチと CREB. 第 34 回日本臨床免疫学会総会, 東京 2006
- 9) Baba T, Iwasaki S, Katsumata K, Tomaru U, Kasahara M, Ishizu A. CD4/CD8 double-positive monocyte/macrophages: a subpopulation of the macrophage/dendritic cell lineage with a cytotoxic phenotype. 日本免疫学会総会・学術集会, 大阪 2006
- 10) Kajikawa M, Baba T, Tomaru U, Maenaka K, Ishizu A, Kasahara M. MHC class I-like MILL molecules are β 2-microglobulin-associated, GPI-anchored glycoproteins that do not require TAP for cell surface expression. 日本免疫学会総会・学術集会, 大阪 2006
- 11) 富居一範, 吉田 繁, 宮武由甲子, 鈴木 昭, 石津明洋, 外丸詩野, 笠原正典. 新たなマウス NKG2D ligand 様分子の同定とその機能に関する解析. 日本免疫学会総会・学術集会, 大阪 2006

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。
2. 実用新案登録
該当なし。
3. その他
該当なし。

プロテオミクス/ペプチドミクスを用いた血管炎関連蛋白質同定と解析

分担研究者 加藤智啓 聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター
生体機能・プロテオーム制御部門 部門長

研究要旨

難治性血管炎の病態解明や早期診断に有用なペプチドを検索する目的で、昨年度までに血清中の疾患特異的ペプチドを、疎水性ビーズを用いて濃縮精製し、質量分析による検出・検索する手法を確立した。今年度は同手法を用いて顕微鏡的多発血管炎患者血清中に存在するペプチドの検索を行った。その結果、顕微鏡的多発血管炎患者では健常者と比べて、C3fの分解産物である14および16アミノ残基のペプチドが多量に存在することが判明した。16アミノ残基のC3fの分解産物は血管内皮細胞を増殖させることを突き止めており、今後、さらにこれらペプチドの病態的意義を明らかにしていく必要がある。

A. 研究目的

本研究は血清中のペプチドを検索同定する方法を開発し、難治性血管炎の病態解明や早期診断に有用なペプチドを得ることを目的とする。顕微鏡的多発動脈炎・結節性多発動脈炎など血管炎症を主体とする一群の疾患（いわゆる血管炎症候群）は、一般に難治性かつ予後不良であり、病因解明が社会的要請である。発症機序としては自己免疫機序の関与が考えられているが、その詳細は不明である。こうした病因不詳の疾患の解明を目指した研究においては、従来研究成果を基礎にして病態的役割をもつ可能性のある分子を検討していく方法、すなわち、候補分子的アプローチに加えて、特定の分子を設定しないで疾患関連分子を検索していく方法、すなわち仮説フリーの網羅的スクリーニングも必要かつ有効となる。ここでは、その網羅的検索方法として、検索対象を分子量が5,000程度以下のペプチドに限定し、血清中に存在する血管炎特異的ペプチドを検索する手法の確立を試みた。分子量5,000程度以下のペプチドは、アミノ酸残基数で40強までのペプチドに相当し、これまでの蛋白質解析手法では、分子量が小さすぎて検索の対象にならなかった分子群である。我々は疎水性ビーズを用いてそれらペプチドを濃縮精製、質量分析によるペプチドの直接的検出を行うことでこの難点を克服した。膠原病患者血清を用いた検討で疾患特異的なペプチドの検出

と同定が可能であることが判明した。さらに、顕微鏡的多発血管炎患者血清を用いた検索においても健常人に比べ、高濃度に存在するペプチドを検出した。これらを同定した結果、補体C3fの分解産物を含む複数のペプチドを同定した。

B. 研究方法

顕微鏡的多発血管炎患者血清5 μ lから疎水性ビーズであるMB-C18を使用し、小ペプチドを吸着させ、洗浄後、アセトニトリルを用いて抽出した。これをマトリックスと混合し、MALDI-TOF型質量分析器を用いて、その試料中に含まれるペプチドの検出と質量の測定を同時に行った。質量測定の結果は、ブルカー社製ClinProtプログラムを用いたコンピュータ解析により、各疾患群に特異的なペプチドピークを抽出した。さらにこれら検出した疾患特異的なペプチドピークを同定するために、別途、血清150 μ lから、分子フィルターにより高分子を取り除いた後、C18チップを用いてペプチドを濃縮精製し、MALDI-TOF/TOF型質量分析器をもちいて、de novoアミノ酸配列決定を行った。

C. 研究結果

顕微鏡的多発血管炎患者血清と10検体と健常人血清10検体から、MALDI-TOF型質量分析器を用いて個別にペプチドを網羅的に検出した。その結果、顕微鏡的多発血管炎患者で100以上のペプチドが検出された。そのうち約20個のペプチドが健常

者群と比べて、高濃度に存在した。MALDI-TOF/TOF 型質量分析器を用いたペプチド同定で14個のペプチド配列を同定した。それにより補体 C3f ペプチドから C 末端のアルギニン残基が離脱した des-Arg-C3f とその派生ペプチドのうち、14 アミノ残基のものが健常者と比べ、250 倍以上存在すること、酸化された 16 アミノ残基のペプチドが約 50 倍存在することが、判明した。すでに我々は、C3f ペプチドが血管内皮細胞の増殖を促すことを見出し、今後、上記の 2 ペプチドを含み、C3f 分解ペプチドの病態的意義、診断的意義について検討を進めていく予定である。

D. 考察

血管炎に特異性の高い分子、すなわち疾患関連分子を検索することは、血管炎の病因解明による新規治療法の開発と、診断あるいは治療モニタリングなど臨床経過把握において、重要である。これまで技術的に顧みられることのなかった分子量約 5,000 以下の小ペプチドに着目し、疾患特異的小ペプチドの検出法の確立し、顕微鏡的多発血管炎で増加する血清ペプチドを検出し、ペプチドのアミノ酸配列まで同定した。これらペプチドの病態的意義、診断的意義についての検討が望まれる。

E. 結論

ペプチドの網羅的解析法、すなわちペプチドミクスより得られた顕微鏡的多発血管炎特異的血清ペプチドは、血管炎の病因関連分子として、診断あるいは治療モニタリングなど臨床経過把握分子として有用である可能性があり、顕微鏡的多発血管炎の克服に貢献しうる。今後、得られたペプチドの病態的意義を探っていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Guo-Hua Yuan, Atsuyuki Shibakawa, Michiaki Tanaka, Kayo Masuko-Hongo, Tomohiro Kato, Kusuki Nishioka, Hiroshi Nakamura. Characterization of Cells from Pannus-like Tissue over Articular Cartilage of Advanced

Osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2004 Jan; 12(1):38-45.

2. Yao Z, Kurokawa MS, Masuko-hongo K, Tsuruha J, Sakata M, Nakamura H, Nishioka K, Kato T. Characterization of arthropathy in mice immunized with cartilage intermediate layer protein. *Ann Rheum Dis*. 2004 Mar; 63(3):252-8.
3. Takata S, Nakamura H, Umamoto S, Yamaguchi K, Sekine T, Kato T, Nishioka K, Matsuzaki M. Identification of autoantibodies with the corresponding antigen for repetitive coxsackievirus infection-induced cardiomyopathy. *Circ J*. 2004 Jul; 68(7):677-82.
4. Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Ohmi S, Fukuda H, Nishioka K, Kato T. Proteomic surveillance of autoimmunity in osteoarthritis: Identification of triose phosphate isomerase as an autoantigen in patients with osteoarthritis. *Arthritis & Rheum* 2004; 50:1511-1521.
5. Nakamura M, Tsutsumi, Sekine T, Koizuka, Nishioka K, Kato T. Identification of β -tubulin isoform as an autoantigen in allergic rhinitis. *Microbiol. Immunol*. 2004; 48:427-434.
6. Kato T, Asahara H, Suzuki-Kurokawa M, Fujisawa K, Hasunuma T, Inoue H, Motokawa S, Sumida T, Nishioka K. HTLV-I env protein acts as a major antigen in patients with HTLV-I associated arthropathy. *Clin Rheumatol* 2004 Oct; 23(5):400-9.
7. Tanaka M, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K, Nakamura H. Suppressing effects of hyaluronan on MMP-1 and RANTES production from chondrocytes. *Rheumatol Int*. 2004 Dec 3 (in press)
8. Kato T, Xiang Y, Nakamura H, Nishioka K. Neo-antigens in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16:604-608.
9. Nakamura H, Shibakawa A, Tanaka M, Kato T, Nishioka K. Effects of glucosamine hydrochloride on the production of prostaglandin E2, nitric oxide and metalloproteases by chondrocytes and synoviocytes in osteoarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22:293-299.
10. Shan ZZ, Masuko-Hongo K, Dai SM, Nakamura H, Kato T, Nishioka K. A role

- of 15d-PGJ2 in chondrocyte apoptosis. *JBC* 2004; 279:37939-37950.
11. Fukuda Y, Yotsuyanagi H, Ooka S, Sekine T, Koike J, Takano T, Suzuki M, Itoh F, Nishioka K, Kato T. Identification of a New Autoantibody in Patients With Chronic Hepatitis. *Hum Immunol*. 2004 Dec; 65(12): 1530-8.
 12. Karasawa R, Ozaki S, Nishioka K, Kato T. Autoantibodies to Peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases. *Microbiol. Immunol*. 2005; 49(1): 57-65.
 13. Yudoh K, Trieu NV, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and development of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. *Arthritis Res Ther*. 2005; 7: R380-R391.
 14. 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. *Anal Biochem*. 2005; 340: 184-186.
 15. Yudoh K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. Catabolic stress induces expression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α in articular chondrocytes: involvement of HIF-1 α in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005; 7: R904-R914.
 16. Shibakawa A, Yudoh K, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K, Nakamura H. The role of subchondral bone resorption pits in osteoarthritis: MMP production by cells derived from bone marrow. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 Aug;13(8):679-87.
 17. Du H, Masuko-Hongo K, Nakamura H, Xiang Y, Bao CD, Wang XD, Chen SL, Nishioka K, Kato T. The prevalence of autoantibodies against cartilage intermediate layer protein, YKL-39, osteopontin, and cyclic citrullinated peptide in patients with early-stage knee osteoarthritis: evidence of a variety of autoimmune processes. *Rheumatol Int*. 2004 Sep 18; [Epub ahead of print]
 18. 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*. 2005 Apr; 38(1):17-24. Epub 2005 Jan 12.
 19. Masuko-Hongo K, Kato T. Recent developments in treatment of osteoarthritis. *Current Drug Inflammation and Allergy* (in press).
 20. Yudoh K, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K. Correction: Catabolic stress induces expression of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α in articular chondrocytes: involvement of HIF-1 α in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:225
 21. Tanaka M, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K, Nakamura H. Suppressive effects of hyaluronan on MMP-1 and RANTES production from chondrocytes. *Rheumatol Int*. 2006;26(3):185-190.
 22. Dai SM, Shan ZZ, Nakamura H, Masuko-Hongo K, Kato T, Nishioka K, Yudoh K. Catabolic stress induces features of chondrocyte senescence through overexpression of caveolin 1: possible involvement of caveolin 1-induced down-regulation of articular chondrocytes in the pathogenesis of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2006;54(3):818-831.
 23. Tanaka Y, Nakamura M, Matsui T, Iizuka N, Kondo H, Tohma S, Masuko K, Yudoh K, Nakamura H, Nishioka K, Koizuka I, Kato T. Proteomic Surveillance of Autoantigens in Relapsing Polychondritis. *Immunol Microbiol*. 2006;50(2):117-126.
 24. Xiang Y, Sekine T, Nakamura H, Imajoh-Ohmi S, Fukuda H, Yudoh K, Masuko-Hongo K, Nishioka K, Kato T. Fibulin-4 is a target of autoimmunity predominantly in patients with osteoarthritis. *J Immunol*. 2006;176(5): 3196-3204
 25. Nakamura H, Tanaka M, Masuko-Hongo K, Yudoh K, Kato T, Beppu M, Nishioka K. Enhanced production of MMP-1, MMP-3, MMP-13, and RANTES by interaction of

- chondrocytes with autologous T cells. Rheumatol Int. 2006;9:1-7.
26. Murata M, Yudoh K, Nakamura H, Kato T, Inoue K, Chiba J, Nishioka K, Masuko-Hongo K. Distinct signaling pathways are involved in hypoxia- and IL-1-induced VEGF expression in human articular chondrocytes. J Orthop Res. 2006;24(7):1544-1554.
27. Shimada S, Nakamura M, Tanaka Y, Tsutsumi K, Katano M, Masuko K, Yudoh K, Koizuka I, Kato T. CrossLinking of the CD69 Molecule Enhances S100A9 Production in Activated Neutrophils. Microbiol Immunol. 2007;51(1):87-98.
28. Takahashi H, Yotsuyanagi H, Yasuda K, Koibuchi T, Suzuki M, Kato T, Nakamura T, Iwamoto A, Nishioka K, Iino S, Koike K, Itoh F. Molecular epidemiology of hepatitis A virus in metropolitan areas in Japan. J Gastroenterol. 2006 Oct;41(10):981-6. Epub 2006 Nov 9.
29. Nakamura H, Masuko K, Yudoh K, Kato T, Kamada T, Kawahara T. Effects of glucosamine administration on patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int. 2007 Jan;27(3):213-8. Epub 2006 Sep 5.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

1. 実用新案登録

なし。