

膜外来にてBDと診断された患者389例を患者群として用いた。対照群は血縁関係が確認されない健常日本人254例を用いた。患者群の内訳は男性223検体、女性166検体、完全型156検体、不全型212検体、眼症状有り316検体、眼症状無し73検体、皮膚症状有り326検体、皮膚症状無し63検体であった。HLA-B\*51陰性群でのアリル保有率の比較ではアリルタイピングの結果において、B\*51陰性と判定された検体を使用した。

### 〔結果〕

① 患者群全体での比較では、B\*5101が患者群で有意に増加しており ( $P_c = 9.86 \times 10^{-12}$ ,  $OD = 3.65$ ), A\*3303, B\*5401は有意に減少していた (A\*3303:  $P_c = 0.01377$ ,  $OD = 0.46$ ; B\*5401:  $P_c = 0.000374$ ,  $OD = 0.36$ ). 完全型では、A\*2601とB\*5101が有意に増加しており (A\*2601:  $P_c = 0.00155$ ,  $OD = 2.54$ ; B\*5101:  $P_c = 8.37 \times 10^{-12}$ ,  $OD = 4.32$ ), A\*3303とB\*5401が有意に減少していた (A\*3303:  $P_c = 0.00784$ ,  $OD = 0.29$ ; B\*5401:  $P_c = 0.00496$ ,  $OD = 0.27$ ). 不全型では、B\*5101が有意に増加しており ( $P_c = 1.63 \times 10^{-8}$ ,  $OD = 3.38$ ), B\*5401は有意に減少していた ( $P_c = 0.01122$ ,  $OD = 0.36$ ). 眼症状有り群では、A\*2601とB\*5101が有意に増加しており (A\*2601:  $P_c = 0.01003$ ,  $OD = 2.19$ ; B\*5101:  $P_c = 4.29 \times 10^{-15}$ ,  $OD = 5.13$ ), A\*3303, B\*4403, B\*5401は有意に減少していた (A\*3303:  $P_c = 0.00187$ ,  $OD = 0.36$ ; B\*4403:  $P_c = 0.02772$ ,  $OD = 0.42$ ; B\*5401:  $P_c = 5.94 \times 10^{-6}$ ,  $OD = 0.23$ ). 眼症状無し群では、B\*5101が有意に増加しており ( $P_c = 0.002656$ ,  $OD = 3.23$ ), A\*0206は有意に減少していた ( $P_c = 0.02928$ ,  $OD = 0.23$ ). 皮膚症状有り群では、B\*5101が有意に増加しており ( $P_c = 1.73 \times 10^{-15}$ ,  $OD = 5.20$ ), A\*3303とB\*5401は有意に減少していた (A\*3303:  $P_c = 0.024$ ,  $OD = 0.46$ ; B\*5401:  $P_c = 0.000269$ ,  $OD = 0.32$ ). 皮膚症状無し群では、A\*2602とB\*5101が有意に増加していた (A\*2602:  $P_c = 0.00512$ ,  $OD = 5.80$ ; B\*5101:  $P_c = 0.0186$ ,  $OD = 2.99$ ).

② HLA-B\*51陰性群での比較では、患者群全体

でA\*2601が有意に増加していた ( $P_c = 0.01072$ ,  $OD = 2.27$ ). 完全型ではA\*2601が有意に増加していた ( $P_c = 0.000322$ ,  $OD = 3.3$ ). 不全型では、有意な増減は認められなかった。眼症状有り群では、A\*2601が有意に増加しており ( $P_c = 0.000368$ ,  $OD = 3.02$ ), B\*5401は有意に減少していた ( $P_c = 0.0066$ ,  $OD = 0.31$ ). 眼症状無し群では、有意な増減は認められなかった。皮膚症状あり群では、A\*2601が有意に増加していた ( $P_c = 0.00704$ ,  $OD = 2.56$ ). 皮膚症状無し群では、有意な増減は認められなかった。

### D. 考 察

今回の結果より日本人のBD患者はB\*5101と顕著に相関していることが再確認された (B\*5101:  $P_c = 9.86 \times 10^{-12}$ ). 患者群全体で有意な増減を示したA\*3303, B\*5401はHLA-B\*51陰性群で比較すると有意差は消失し、これらのアリルはHLA-B\*51との連鎖不平衡による二次的な結果と考えられた。一方で、A\*2601はB\*5101と連鎖不平衡の関係はないにもかかわらず、HLA-B\*51陰性群で有意に増加していた。したがって、A\*2601はBDの病態形成に関与するB\*5101以外の第二の疾患感受性遺伝子である可能性が考えられた。

病型での比較では完全型、不全型ともにB\*5101は有意に増加していた。B\*51との連鎖不平衡を考慮してB\*51陰性群で両群を比較したところ、A\*2601は完全型で有意に増加していた。眼症状の有無での比較では、B\*5101は眼症状の有無に関わらず有意に増加していたが、またA\*2601は眼症状のある群で有意に増加していた。皮膚症状の有無での比較でも同様に、B\*5101は皮膚症状の有無に関わらず有意に増加していたが、A\*2601は皮膚症状のある群で有意に増加していた。

以上のことより、B\*5101は本病全体の病態形成に関与し、A\*2601は完全型、眼症状および皮膚症状など、本病の病態修飾に影響を与えている可能性が考えられた。

## E. 結 論

HLA-A\*2601は B\*5101と連鎖不平衡はなく、本病病態形成に関わる第二の疾患感受性遺伝子である可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Itoh Y, Inoko H, Kulski JK, Sasaki S, Meguro A, Takiyama N, Nishida T, Yuasa T, Ohno S, Mizuki N: Four-digit allele genotyping of the HLA-A and HLA-B genes in Japanese patients with Behcet's disease by a PCR-SSOP-Luminex method. *Tissue Antigens* 67: 390 – 394. 2006.

2. Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, Azuma F, Itakura M, Kashiwase K, Kikkawa E, Kulski JK, Satake M, Inoko H: High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics* 57: 717 – 29. 2005.

### 2. 学会発表

なし

## 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

表1 病型, 症状別のHLA-Aおよび-Bアリル保有率

| HLA allele | 病型               |                        |                  |                  | 眼症状             |                  | 皮膚症状            |                 |                 |
|------------|------------------|------------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|            | 対照群<br>(n = 254) | 患者群<br>全体<br>(n = 389) | 完全型<br>(n = 156) | 不全型<br>(n = 212) | 有<br>(n = 316)  | 無<br>(n = 73)    | 有<br>(n = 326)  | 無<br>(n = 63)   |                 |
| 増加         | A*2601           | 34<br>(13.4%)          | 88 †<br>(22.6%)  | 48 ‡<br>(30.8%)  | —               | 80 ‡<br>(25.3%)  | 72 †<br>(22.1%) | —               |                 |
|            | A*2602           | 8<br>(3.15%)           | —                | —                | 18 †<br>(8.5%)  | 23 †<br>(7.3%)   | —               | 10 ‡<br>(15.9%) |                 |
|            | B*4601           | 21<br>(8.3%)           | —                | —                | —               | —                | 13 †<br>(17.8%) | —               |                 |
|            | B*5101           | 41<br>(16.1%)          | 185 ‡<br>(47.6%) | 83 ‡<br>(53.2%)  | 96 ‡<br>(45.3%) | 157 ‡<br>(49.7%) | 28 ‡<br>(38.4%) | 163 ‡<br>(50%)  | 23 ‡<br>(36.5%) |
| 減少         | A*0201           | 64<br>(25.2%)          | —                | 22 †<br>(14.1%)  | —               | —                | —               | —               |                 |
|            | A*0206           | 51<br>(20.1%)          | —                | —                | —               | —                | 4 ‡<br>(5.5%)   | —               |                 |
|            | A*1101           | 47<br>(18.5%)          | 48 †<br>(12.3%)  | —                | —               | —                | —               | 41 †<br>(12.6%) |                 |
|            | A*3303           | 42<br>(16.5%)          | 31 ‡<br>(8%)     | 8 ‡<br>(5.1%)    | 20 †<br>(9.4%)  | 21 ‡<br>(6.65%)  | —               | 27 ‡<br>(8.3%)  | 4 †<br>(6.35%)  |
|            | B*3501           | 40<br>(15.75%)         | —                | —                | —               | —                | 3 †<br>(4.1%)   | —               |                 |
|            | B*4403           | 40<br>(15.75%)         | 34 †<br>(8.7%)   | 10 †<br>(6.4%)   | —               | 23 ‡<br>(7.3%)   | —               | —               |                 |
|            | B*4801           | 21<br>(8.3%)           | 16 †<br>(4.1%)   | 3 †<br>(1.9%)    | —               | 13 †<br>(4.1%)   | —               | 14 †<br>(4.3%)  |                 |
|            | B*5401           | 47<br>(18.5%)          | 27 ‡<br>(6.9%)   | 8 ‡<br>(5.1%)    | 15 ‡<br>(7.1%)  | 16 ‡<br>(5.1%)   | —               | 22 ‡<br>(6.75%) | 5 †<br>(7.9%)   |
|            | B*5801           | 5<br>(2%)              | 1 †<br>(0.3%)    | 0 †<br>(0%)      | —               | —                | —               | —               |                 |

† : P < 0.05, ‡ : Pc < 0.05, — : no significant difference

表2 HLA-B\*51陰性群における病型, 症状別の HLA-A および -B アリル保有率

| HLA allele | 病型               |                        |                 |                  | 眼症状             |                 | 皮膚症状            |               |
|------------|------------------|------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|
|            | 対照群<br>(n = 213) | 患者群<br>全体<br>(n = 199) | 完全型<br>(n = 72) | 不全型<br>(n = 114) | 有<br>(n = 157)  | 無<br>(n = 41)   | 有<br>(n = 159)  | 無<br>(n = 40) |
| A*2601     | 30<br>(14.1%)    | 58 ‡<br>(29.2%)        | 29 ‡<br>(40.3%) | 27 †<br>(23.7%)  | 52 ‡<br>(33.1%) | -               | 47 ‡<br>(29.6%) | -             |
| A*2602     | 7<br>(3.3%)      | 20 †<br>(10.1%)        | -               | 14 †<br>(12.3%)  | 18 †<br>(11.5%) | -               | -               | -             |
| 増加 B*1518  | 8<br>(3.8%)      | 18 †<br>(9.05%)        | 8 †<br>(11.1%)  | -                | 17 †<br>(10.8%) | -               | -               | -             |
| B*3501     | 38<br>(17.8%)    | -                      | -               | -                | -               | -               | -               | 12 †<br>(30%) |
| B*4601     | 17<br>(8%)       | -                      | -               | -                | -               | 9 †<br>(21.95%) | 25 †<br>(15.7%) | -             |
| A*0206     | 46<br>(21.6%)    | 26 †<br>(13.1%)        | -               | 14 †<br>(12.3%)  | -               | -               | 27 †<br>(13.2%) | -             |
| A*3303     | 38<br>(17.8%)    | 19 †<br>(9.55%)        | 5 †<br>(6.9%)   | 11 †<br>(9.7%)   | 13 †<br>(8.2%)  | -               | 15 †<br>(9.4%)  | -             |
| B*3501     | 38<br>(17.8%)    | -                      | -               | -                | -               | 2 †<br>(4.9%)   | -               | -             |
| 減少 B*4403  | 35<br>(16.4%)    | -                      | -               | 10 †<br>(8.8%)   | 15 †<br>(9.55%) | -               | -               | -             |
| B*4801     | 21<br>(9.9%)     | -                      | 2 †<br>(2.8%)   | -                | -               | -               | -               | -             |
| B*5401     | 45<br>(21.1%)    | 20 †<br>(10.1%)        | 4 †<br>(5.6%)   | 12 †<br>(10.5%)  | 12 ‡<br>(7.6%)  | -               | 15 †<br>(9.4%)  | -             |
| B*5801     | 5 †<br>(2.35%)   | 1 †<br>(0.5%)          | -               | -                | -               | -               | -               | -             |

† : P < 0.05, ‡ : Pc < 0.05, - : no significant difference

## 病因・病態と発症外因子

# ベーチェット病の病態における末梢血 NK 細胞の機能解析

分担研究者 桑名 正隆 (慶應義塾大学内科 助教授)  
研究協力者 山口 由衣 (横浜市立大学皮膚科 大学院生)  
高橋 一夫 (横浜市立大学皮膚科 準教授)  
池澤 善郎 (横浜市立大学皮膚科 教授)  
水木 信久 (横浜市立大学眼科 教授)

## 研究要旨

NK 細胞はサイトカイン分泌パターンにより Th1・Th2細胞と類似の NK1 (IFN $\gamma$   $\uparrow$ , IL12R $\beta$ 2 $\uparrow$ , IL-10 $\uparrow$ )・NK2細胞 (IL-5 $\uparrow$ , IL-13 $\uparrow$ , IL12R $\beta$ 2 $\downarrow$ ) に分類され, 細胞傷害作用のみならず, サイトカインを介して獲得免疫応答を調節することが知られている. 昨年度までの検討から, 活動期ベーチェット病 (BD) 患者の末梢血 NK 細胞は CD8 $^+$  T 細胞や  $\gamma\delta$  T 細胞と同様に活性化していることが示されているが, その役割は明らかでない. そこで本年度は, BD 患者末梢血中の NK 細胞における, 種々の免疫調節遺伝子の発現レベルを検討し, BD の病態における NK 細胞の役割を追究した. 対象は非活動期 BD 患者32例, 活動期 BD 患者6例, 健常人22例. 末梢血単核球から磁気ビーズ結合モノクローナル抗体を用いて CD3 $^-$  CD14 $^-$  CD56 $^+$  の NK 細胞を分離し, 各種免疫調節遺伝子の発現レベルを RT-PCR 法および定量的 real-time PCR 法により検討した. 非活動期 BD 患者では健常人および活動期 BD 患者と比較して, 末梢血 NK 細胞における IL12R $\beta$ 2, perforin, granzyme B の mRNA 発現が低下し, IL-13発現は上昇し NK2にシフトしていた. 一方活動期 BD 患者においては, granzyme B 発現上昇以外, 健常人と差を認めなかった. 非活動期 BD 患者における末梢血 NK 細胞は NK2タイプに偏倚し, BD の Th1病態を抑制する可能性が示唆された.

## A. 研究目的

ベーチェット病 (BD) は口腔内アフタ, 外陰部潰瘍, 眼ぶどう膜炎, 皮膚症状を主徴とした全身性炎症性疾患であるが, その病態にはいまだ不明な点が多い. 現在までの研究背景として, BD 患者の末梢血および病変組織におけるサイトカイン発現解析により, CD4 $^+$  T 細胞の Th1への偏倚が報告されてきた<sup>1) 2)</sup>. また, ストレス誘導蛋白 MICA 反応性 CD8 $^+$  T 細胞が活動期 BD 患者末梢血より検出されるなど, CD8 $^+$  T 細胞,  $\gamma\delta$  T 細胞など細胞傷害性リンパ球の病態への関与も指摘されてきた<sup>3)</sup>. 昨年度我々は, 活動期 BD の末梢血における NK 細胞の活性化を報告したが, その BD の病態における役割はいまだ明らかでない. NK 細胞は古くから腫瘍細胞やウイルス感染細胞などを MHC 拘束性なしに傷害する細胞として認

識されてきた. 近年, NK 細胞は Th1, Th2類似のサイトカイン分泌を示す NK1, NK2へと分化することで<sup>4)</sup>, サイトカイン分泌を介して獲得免疫応答を調節することが報告された<sup>5) 6)</sup>. そこで今回我々は, NK 細胞のサイトカインプロファイルを解析することで, BD の Th1病態における NK 細胞の役割について検討した.

## B. 研究方法

### 1. 対象

厚生労働省研究班の診断基準 (2003年改訂) を満たすベーチェット病38例. 活動性眼病変を有する患者を活動期 (n = 6), それらを持たない症例を非活動期 (n = 32) とした. またコントロールとして健常人22例を用いた.

## 2. 実験方法

比重遠心法により末梢血単核球 (PBMC) を分離し、磁気ビーズ結合モノクローナル抗体を用いて、NKT細胞を含まない CD3<sup>-</sup> CD14<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> のNK細胞を分離した。NK細胞から total RNA を分離し、さらに逆転写酵素を用いて一本鎖 cDNA を合成した。各種免疫調節遺伝子 (IL-5, IL-10, IL-13, IFN $\gamma$ , IL12R $\beta$ 2, perforin, granzyme B) に特異的な Primer セットを用いた PCR により増幅し、アガロース電気泳動後のエチジウムブロミド染色後イメージを半定量的に解析した。IL12R $\beta$ 2, IL-13, IL-5, IL-10, perforin, granzyme B 遺伝子については、Taqman<sup>®</sup> プローブを用いた real-time PCR 法を用いて定量的に発現レベルを解析した。

## 3. 統計学的解析

2群間の分布差は Mann-Whitney U-test を用いて検定した。

### (倫理面への配慮)

すべての患者検体は学内の倫理委員会で承認された文書によるインフォームドコンセントを得た上で提供を受けた。

## C. 研究結果

まず活動期、非活動期 BD、健常人由来の末梢血NK細胞における IL-5, IL-10, IL-13, IFN $\gamma$ , IL12R $\beta$ 2, perforin, granzyme B の発現を RT-PCR による半定量的な解析を行った。その結果、IFN $\gamma$  については発現レベルに明らかな差を認めなかった。そこで IFN $\gamma$  を除く 6 遺伝子について、その発現レベルを定量的 PCR により解析した。

健常人、非活動期 BD、活動期 BD における IL12R $\beta$ 2 発現レベルを図 1a に示す。非活動期 BD における IL12R $\beta$ 2 発現は、健常人、活動期 BD に比較して有意に低下していた ( $P = 0.00004$ ,  $0.003$ )。一方、健常人と活動期 BD 間でのその発現に差はなかった。また、眼発作直後の活動期とその後の非活動期の 2 点で経時的変化を追跡することができた 3 例では、活動性の鎮静化に伴って、IL12R $\beta$ 2 発現も低下した (図 1b)。同様に、

血NK細胞の IL-13 発現レベルを定量的 PCR で検討した (図 2a)。非活動期 BD における IL-13 発現は健常人に比較して有意に増加し ( $P = 0.03$ )、活動期 BD に比べて高い傾向があった。一方、健常人と活動期 BD の間に発現差はなかった。また、活動期から非活動期への病勢変化に伴い、3 例中 2 例で IL-13 発現が上昇した (図 2b)。

NK細胞における perforin の発現は、非活動期 BD において、健常人、活動期 BD に比較して有意に低下し ( $P = 0.00002$ ,  $0.002$  図 3a)、健常人と活動期 BD 間で差はなかった。また、活動期 3 例での経時的検討では、非活動期への病勢変化に伴って、perforin の発現は低下した (図 3b)。NK細胞における granzyme B 発現は、非活動期 BD において、健常人、活動期 BD に比較して有意に低下していた ( $P = 0.03$ ,  $0.004$  図 4a)。一方、活動期 BD における granzyme B 発現は、健常人に比較して有意に上昇していた ( $P = 0.02$ )。活動期 3 例の経時的変化では活動性低下に伴い 3 例中 2 例で granzyme B 発現が低下した (図 4b)。

また、NK細胞における IL-10 発現は健常人、非活動期 BD、活動期 BD 間で有意差を認めず、IL-5 発現はいずれの検体においても検出できなかった。

## D. 考 察

NK細胞はサイトカイン発現プロファイルの解析により Th1, Th2 類似の NK1 (IFN $\gamma$ , IL-10, IL12R $\beta$ 2 高発現), NK2 (IL-5, IL-13 高発現, IL12R $\beta$ 2 低発現) へと分類できる<sup>4)</sup>。ヒト疾患においてNK細胞がサイトカイン分泌を介して獲得免疫応答を調節する知見は、代表的な Th1 型疾患である多発性硬化症 (MS) で最初に報告された<sup>5)</sup>。MS 寛解期における末梢血NK細胞は IL12R $\beta$ 2 低発現, IL-5 高発現の NK2 であり、その傾向は再発期に消失していた。一方、Th2 型疾患である尋常性天疱瘡 (PV) における末梢血NK細胞の解析では、IL12R $\beta$ 2 が低発現で、IL-5 を発現する NK2 優位であり、PV の Th2 型免疫反応に貢献することも報告されている<sup>6)</sup>。また、細胞傷害活性の主要なメディエータである perforin や granzyme B の発現は、NK2 に比較して NK1 で上昇すること

も示された。今回の結果では、非活動期BDのNK細胞は、IL12R $\beta$ 2低発現、IL-13高発現のNK2タイプであり、活動期には非活動期に比較してNK1タイプに偏倚し、MSと同様の傾向であった。また、非活動期にはperforin、granzyme Bの発現が低下しており、NK2タイプへのシフトに一致していた。以上より、非活動期BDでは、NK細胞がNK2タイプのサイトカイン分泌を介して、BDのTh1型免疫反応を抑制する可能性が示唆された。

## E. 結 論

非活動期BD患者末梢血NK細胞は、NK2に偏倚しており、そのサイトカイン分泌を介してBDのTh1病態を抑制し、疾患活動性をコントロールしている可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし

### 〈引用文献〉

- 1) Frassanito M A et al. Arthritis Rheum 1999; 42: 1967
- 2) Imamura Y et al. Clin Exp Immunol 2005; 139: 371
- 3) Yasuoka H et al. Arthritis Rheum 2004; 50: 3658
- 4) Peritt D et al. J Immunol 1998; 161: 5821
- 5) Takahashi K et al. J Clin Invest 2001; 107: R23
- 6) Takahashi H et al. J Invest Dermatol 2006 in press

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, Yasuoka H, Kawakami Y, Ikeda Y: Increase in circulating endothelial precursors by atorvastatin in patients with systemic sclerosis. Arthritis Rheum, 54 (6): 1946–1951, 2006.
2. Kuwana M, Kaburaki J, Okazaki Y, Miyazaki H, Ikeda Y: Two types of autoantibody-mediated thrombocytopenia in patients with systemic lupus

erythematosus. Rheumatology, 45 (7): 851–854, 2006.

3. Kuwana M, Kurata Y, Fujimura K, Fujisawa K, Wada H, Nagasawa T, Nomura S, Kojima T, Yagi H, Ikeda Y: Preliminary laboratory-based diagnostic criteria for immune thrombocytopenic purpura: Evaluation by multi-center prospective study. J Thromb Haemost, 4 (9): 1936–1943, 2006.
4. Kuwana M: Potential benefit of statins for vascular disease in systemic sclerosis. Curr Opin Rheumatol, 18 (5): 594–600, 2006.
5. Asahi A, Kuwana M, Suzuki H, Hibi T, Kawakami Y, Ikeda Y: Effects of Helicobacter pylori eradication regimen on anti-platelet autoantibody response in infected and uninfected patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Haematologica, 91 (10): 1436–1437, 2006.
6. Kuwana M, Ikeda Y: Helicobacter pylori and immune thrombocytopenic purpura: unsolved questions and controversies. Int J Hematol, 84 (4): 309–315, 2006.
7. Kuwana M, Okazaki Y, Kodama H, Satoh T, Kawakami Y, Ikeda Y: Endothelial differentiation potential of human monocyte-derived multipotential cells. Stem Cells, 24 (12): 2733–2743, 2006.
8. Takahashi H, Amagai M, Tanikawa A, Suzuki S, Ikeda Y, Nishikawa T, Kawakami Y, Kuwana M: T helper 2-biased natural killer cell phenotype in patients with pemphigus vulgaris. J Invest Dermatol, In press, 2007.
9. Ogawa Y, Razaque MS, Kameyama K, Hasegawa G, Shimmura S, Kawai M, Okamoto S, Ikeda Y, Tsubota K, Kawakami Y, Kuwana M: Role of heat shock protein 47, a collagen-binding chaperon, in lacrimal gland pathology in patients with cGVHD. Invest Ophthalmol Vis Sci, In press, 2007.
10. 桑名正隆: H. pylori 感染症と特発性血小板減少性紫斑病. 感染・炎症・免疫, 36 (2): 70–71, 2006.
11. 桑名正隆: 解説: 血小板膜糖蛋白抗体. リウマチ科, 36 (1): 95–102, 2006.
12. 桑名正隆: 桑名正隆: 膠原病のプライマリケ



ア－早期診断と治療指針；ベーチェット病. 総合臨床, 印刷中, 2007.

## 2. 学会発表

1. 山口由衣, 瀬田範行, 岡崎有佳, 高橋一夫, 池澤喜郎, 桑名正隆:  $\beta_2$ -グリコプロテイン I に対する自己反応性 T 細胞の活性化維持機構の解析. 第50回日本リウマチ学会総会 (長崎). 2006. 4. 26
2. Takahashi H, Amagai M, Nishikawa T, Kawakami Y, Kuwana M: Characterization of desmoglein 3-reactive helper T cells involved in pathogenic IgG production in a mouse model for pemphigus vulgaris. The Society for Investigative Dermatology 67th Annual Meeting (Philadelphia). 2006. 5. 6

3. Kuwana M, Asahi A, Suzuki H, Okazaki Y, Ikeda Y: Eradication of *Helicobacter pylori* shifts the balance of Fc $\gamma$  receptors on monocytes toward the inhibitory Fc $\gamma$ RIIB in patients with chronic ITP. The 48th Annual Meeting of American Society of Hematology (Orlando). 2006. 12. 8

## 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

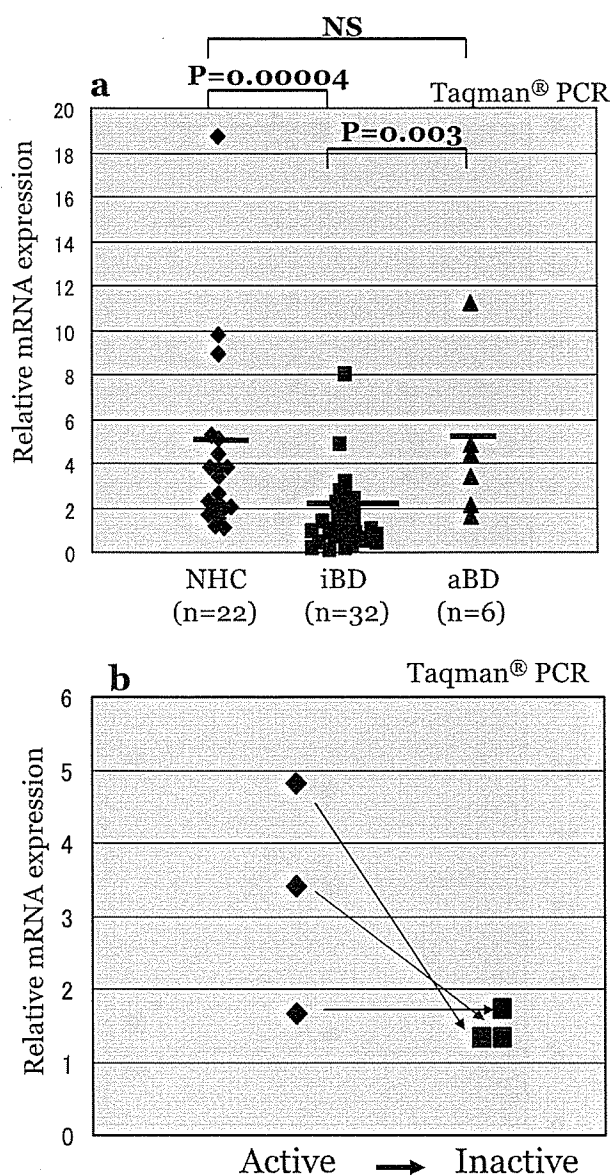


図1 末梢血NK細胞におけるIL12Rβ2 mRNA発現レベルの解析。  
 a: 健常人(NHC), 非活動期BD(iBD), 活動期BD(aBD)の3群で比較。各群の平均を横線で示す。NS:有意差なし。  
 b: 活動期BD3例における非活動期への病勢変化に伴うIL12Rβ2発現レベルの変化を示す。

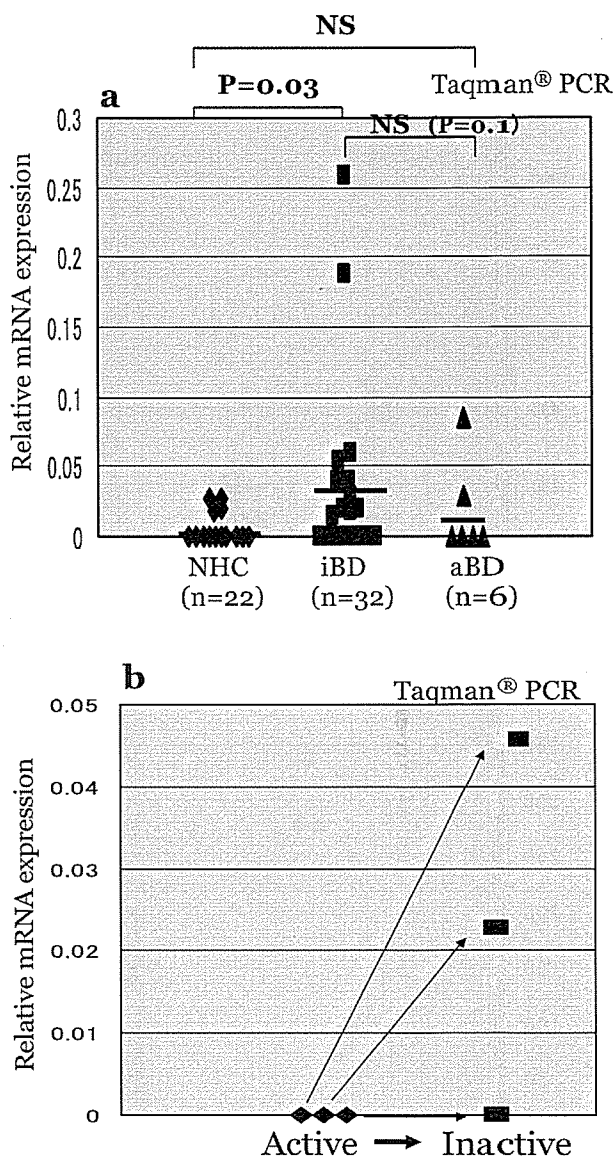


図2 末梢血NK細胞におけるIL-13 mRNA発現レベルの解析。  
 a: 健常人(NHC), 非活動期BD(iBD), 活動期BD(aBD)の3群で比較。各群の平均を横線で示す。NS:有意差なし。  
 b: 活動期BD3例における非活動期への病勢変化に伴うIL-13発現レベルの変化を示す。

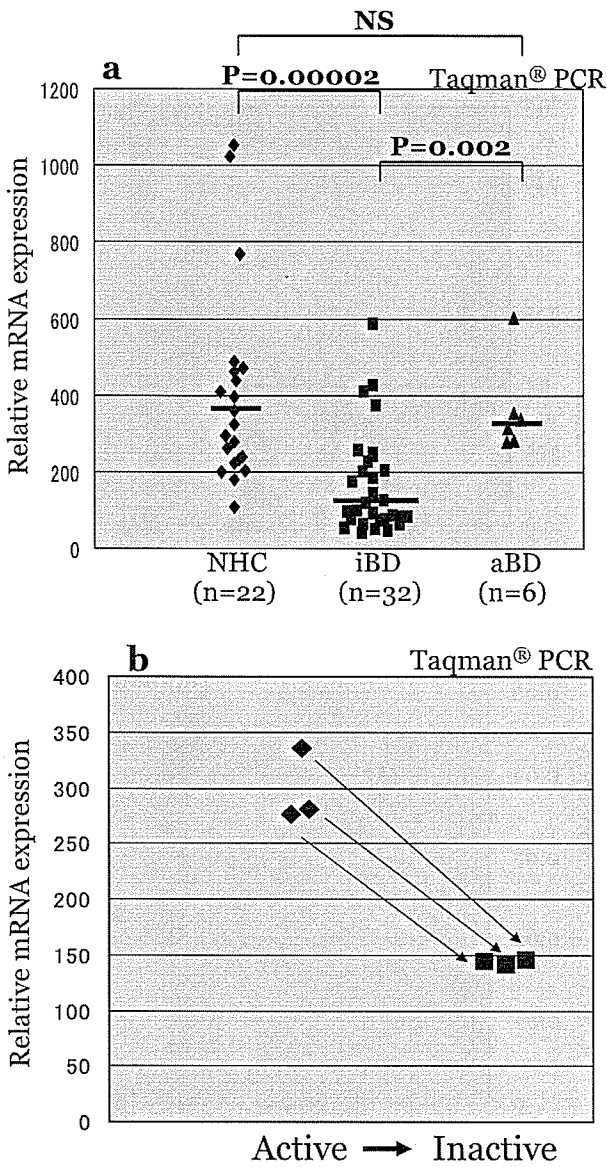


図3 末梢血NK細胞における perforin mRNA 発現レベルの解析。  
 a: 健常人 (NHC), 非活動期 BD (iBD), 活動期 BD (aBD) の3群で比較. 各群の平均を横線で示す. NS: 有意差なし.  
 b: 活動期 BD3例における非活動期への病勢変化に伴う perforin 発現レベルの変化を示す.

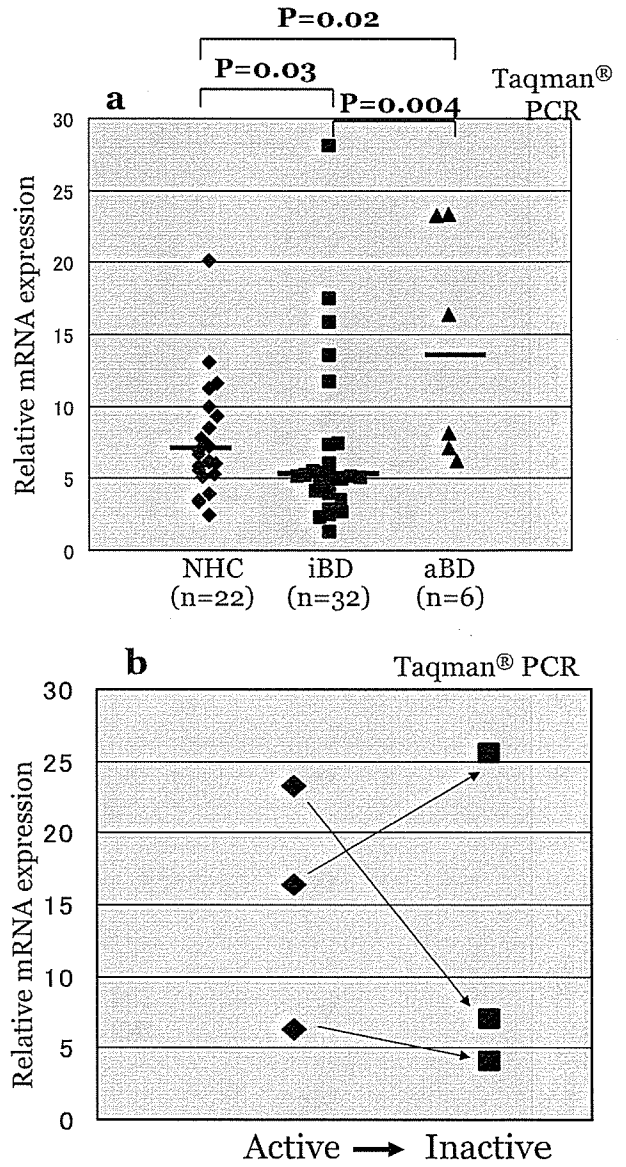


図4 末梢血NK細胞における granzyme B mRNA 発現レベルの解析。  
 a: 健常人 (NHC), 非活動期 BD (iBD), 活動期 BD (aBD) の3群で比較. 各群の平均横線で示す. NS: 有意差なし.  
 b: 活動期 BD3例における非活動期への病勢変化に伴う granzyme B 発現レベルの変化を示す.

# ベーチェット病におけるフィコリン血中濃度に関する研究

分担研究者 中村晃一郎 (福島県立医科大学皮膚科学教室)  
研究協力者 加藤 保信 (福島県立医科大学皮膚科学教室)  
金子 史男 (総合南東北病院免疫アレルギー疾患研究所)  
遠藤 雄一 (福島県立医科大学免疫学教室)  
藤田 禎三 (福島県立医科大学免疫学教室)

## 研究要旨

ベーチェット病 (BD) 患者では連鎖球菌に対する顕著な過敏反応を認め、BD の患者の口腔内で *Streptococcus. sanguinis* が有意に増加していることから、BD とレンサ球菌との関連性が論じられている。我々はこれまで BD 患者の一部に ficolin-2 遺伝子多型頻度の増加を報告している。今回、細菌の細胞壁成分に結合し、補体活性化経路の1つであるレクチン経路に関与する分子である ficolin-2 に着目し、ELISA 法を確立し、ficolin-2 の血清濃度を測定し検討した。その結果、BD 患者における ficolin-2 の血清中濃度と健常人では有意差は認めないものの、BD では平均  $10.4 \mu\text{g/ml}$ 、健常人では平均  $13.7 \mu\text{g/ml}$  であり、BD で若干の低下傾向を認めた。以上の結果は、BD におけるレクチン経路の関与の可能性を示唆している所見と考えられた。

## A. 研究目的

ベーチェット病 (BD) の患者の多くは口腔内衛生状態が悪く、歯肉炎などの感染症を有し、連鎖球菌に対して異常に強い過敏反応を有することが報告されている。また、BD の患者の口腔内には *Streptococcus. sanguinis* が有意に増加しており、いっぽう健常人の口腔内にはほとんど検出されないことから、BD と連鎖球菌の関連性が論じられている。我々は細菌の細胞壁成分に結合し、補体活性化経路の1つであるレクチン経路で病原微生物を認識する分子として働いている ficolin (ficolin-2) に着目し、両者の関連性につき検討した。

## B. 研究方法

ficolin-2 に対するモノクローナル抗体を用いてサンドイッチ ELISA 法を確立した。BD 患者 28 名、健常人 (HC) 30 名、アトピー性皮膚炎 (AD) 患者 22 名について ELISA 法にて血清 ficolin-2 濃度を検討した。

## (倫理面への配慮)

使用した血清はあらかじめ患者同意の上保存されているものである。

## C. 研究結果

BD 患者の血清 ficolin-2 濃度は健常人と比較して、有意差は認めなかった。BD では平均  $10.4 \mu\text{g/ml}$  であり、HC で平均  $13.7 \mu\text{g/ml}$  であり、BD で低い傾向を認めた。AD 患者においては平均  $10.4 \mu\text{g/ml}$  であった (図 1)。

次に BD 患者における血清 ficolin-2 濃度と 1 時間赤沈値、CRP、白血球数の相関を検討した。これらとの間には有意な相関を認めなかった。

さらに BD 患者における ficolin-2 の血清中濃度を HLA-B51 の陽性・陰性群、採血時点での口腔内アフタの有無、外陰部潰瘍を除く皮膚症状の有無、眼症状の有無、外陰部潰瘍の有無について比較検討した。

それぞれ HLA-B51 陽性群、口腔内アフタ無し群、外陰部潰瘍を除く皮膚症状有群、眼症状無し群、外陰部潰瘍を除く皮膚症状有群、眼症状無し群、外陰部潰瘍無の群で、血清 ficolin-2 は若干低値の

傾向を認めしたが、いずれも有意差は認められなかった(図2~6)。

## D. 考 察

BD患者における血清 ficolin-2の濃度は健常人HCに比し、有意な差は認めないものの、若干低値の傾向を示した。これまで我々は、BD患者のHLA-B51陽性群が陰性群に比べて ficolin-2遺伝子多型頻度(-557A > G, -64A > C)が増加することを報告し、遺伝子解析からみた ficolin-2の関与を報告してきた。海外施設の報告例でレクチンの一種である Mannose-binding lectin (MBL) がHCに比較し有意にBD患者で低値であり、さらに重症度との関連性についても論じられている。今回我々が検討した同じレクチンに属する ficolin-2の結果もBDにおけるレクチン経路の関与の可能性を示唆するものと考えられた。また血清 ficolin-2濃度は、外陰部潰瘍を除く皮膚症状有群で若干低値の傾向を認めた。先の報告で血清 MBL 値が低値を示す男性群では血管病変を有する割合が高い傾向が報告されており、BDにおけるレクチンの皮膚症状、血管病変の関与の可能性を示唆するものと考えられた。

## E. 結 論

BD患者における血清 ficolin-2濃度はHCに比し低下傾向を示した。この結果はBDにおけるレクチンの関与の可能性を示唆しており他のレクチンも含めてさらなる検討が必要と考えられた。

## F. 健康危険情報

特記事項なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Chen X, Katoh Y, Nakamura K, Oyama N, Kaneko F, Endo Y, Fujita T, Nishida T, Mizuki N. Single nucleotide polymorphisms of Ficolin 2 gene in Behcet's disease. J Dermatol Sci. 43 (3): 201-5, 2006.

Yanagihori H, Oyama N, Nakamura K, Mizuki N, Oguma K, Kaneko F. Role of IL-12B promoter polymorphism in Adamantiades-Behcet's disease susceptibility: An involvement of Th1 immunoreactivity against Streptococcus Sanguinis antigen. J Invest Dermatol. 126 (7): 1534-40. 2006.

### 2. 学会発表

なし

## 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

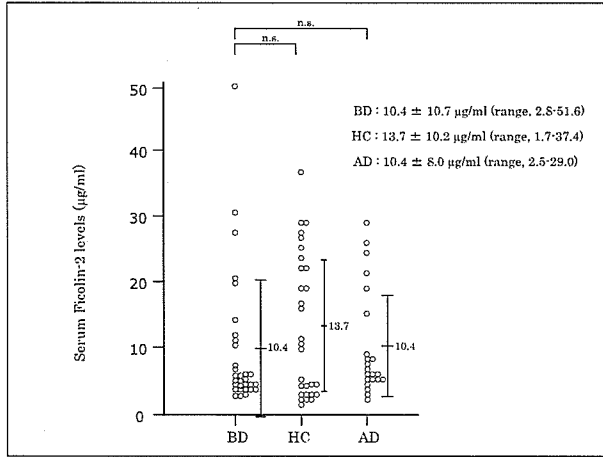


図1 Serum Ficolin-2 levels among BD, HC and AD patients

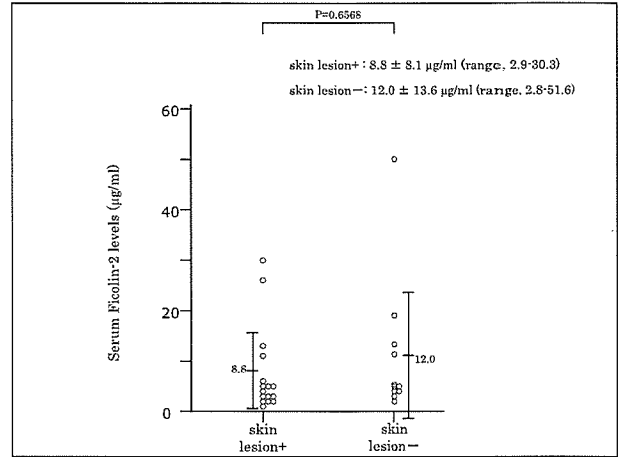


図4 Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without cutaneous involvement

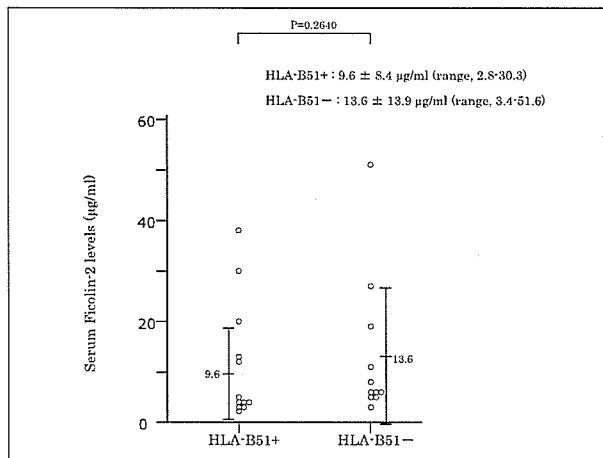


図2 Comparison of serum Ficolin-2 levels between HLA-B51 positive and HLA-B51 negative groups in BD patients

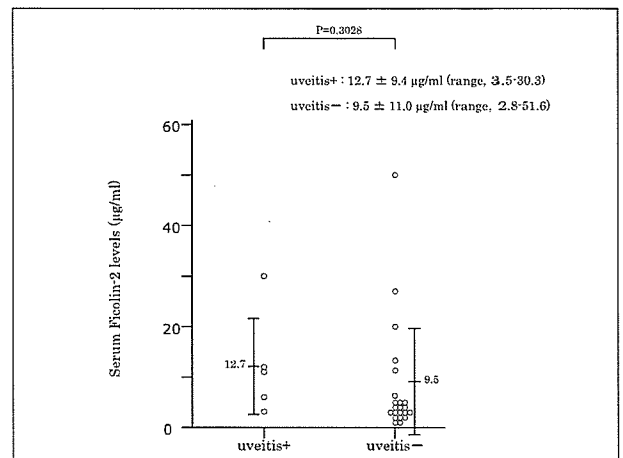


図5 Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without uveitis

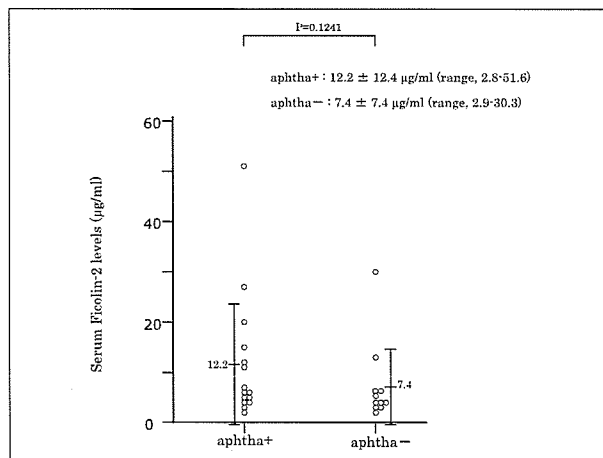


図3 Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without mucosal aphtha

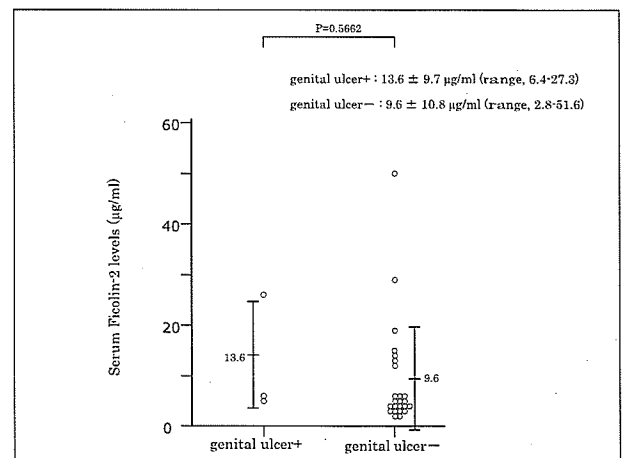


図6 Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without genital ulcer

# ベーチェット病における S100A8/9 蛋白の 炎症バイオマーカーとしての意義

分担研究者 岩月 啓氏 (岡山大学大学院医歯学研究科皮膚・粘膜・結合織学 教授)  
共同研究者 山崎 修 (岡山大学大学院医歯学研究科皮膚・粘膜・結合織学)  
青地 聖子 (岡山大学大学院医歯学研究科皮膚・粘膜・結合織学)  
森実 真 (岡山大学大学院医歯学研究科皮膚・粘膜・結合織学)  
辻 和英 (岡山大学大学院医歯学研究科皮膚・粘膜・結合織学)

## 研究要旨

S100A8/9複合体は好中球、単球・マクロファージより分泌されるカルシウム結合性低分子蛋白である。関節炎や種々の自己免疫疾患における proinflammatory mediator としての作用が注目されているが、ベーチェット病 (BD) については検討されていない。BD 患者血清の S100A8/9蛋白濃度を測定し、活動性、臨床症状、CRP 値との相関について検討した。活動期 BD の血清中の S100A8/9蛋白濃度は非活動期 BD、掌蹠膿疱症、健常人と比較し有意に上昇していた。今後は BD のいかなる病態を反映しているか明らかにしたい。

## A. 研究目的

S100A8/9蛋白はカルシウム結合性低分子蛋白で、20種類以上ある S100A 蛋白ファミリーに属する。主に、表皮ケラチノサイト、好中球、単球・マクロファージよりヘテロダイマーとして分泌される。Wound healing, 抗細菌・真菌増殖抑制, 抗成長およびアポトーシス, 細胞の分化抑制, 悪性腫瘍との関連など様々な作用が報告されている。

皮膚疾患では慢性炎症性角化症である乾癬で検討されており、血清 S100A8/9蛋白と乾癬の重症度が相関していて、蛋白、m-RNA レベルでも乾癬表皮に高発現しており表皮の増殖や異常角化と関連していると考えられている。

また好中球、単球・マクロファージからも産生されるため、慢性関節リウマチ (RA) など関節炎や SLE など自己免疫疾患など炎症性疾患とも深く関連していると報告がある。RA では活性化されたマクロファージから NF- $\kappa$ B を介して炎症性サイトカイン産生を助長するという報告もある。ベーチェット病 (BD) の病態を HSP などの danger signal の刺激により自然免疫系の経路で炎症が惹起持続するもの (autoinflammatory syndrome) として捉えると、単球・マクロファ-

ジから分泌される S100A8/9蛋白が病態に関与していることが予測される。しかしながら現在まで BD における S100A8/9蛋白についての報告はみられない。今回 BD における S100A8/9蛋白の関与について検討した。

## B. 研究方法

岡山大学病院、岡山大学関連病院、福島医科大学付属病院皮膚科通院中の BD 患者 (n = 46) の血清より ELISA 法により S100A8/9蛋白 (calprotectin) 濃度を測定した。掌蹠膿疱症 (n = 8)、健常人 (n = 8) と比較した。また、活動期 BD (n = 30) と非活動期 BD (n = 16) に分けて比較検討した。活動期分類については厚生労働省の研究班により改定 (2003年) された分類に準じた。

CRP や臨床症状と S100A8/9蛋白濃度との相関を検討した。

1 症例において経時的に S100A8/9蛋白濃度を測定し、臨床経過と推移との関係をみた。

### (倫理面への配慮)

完全に匿名化した保全されていた血清検体を用いた。

## C. 研究結果

血清 S100A8/9蛋白濃度は活動期 BD で非活動期、掌蹠膿疱症、健常人と比べ有意に上昇していた (図 1)。

血清 S100A8/9蛋白濃度高値例 (1000ng/mL 以上) の臨床症状は口腔内アフタ (9/13例)、外陰部潰瘍 (5/13例)、眼症状 (1/13例)、結節性紅斑 (2/13例)、ざ瘡 (5/13例)、血栓性静脈炎 (3/13例)、発熱 (5/13例)、関節炎 (0/13例) であった (図 2)。

CRP と血清 S100A8/9蛋白濃度は全検体 (BD, 掌蹠膿疱症, 健常人を含む) でみると統計学的には CRP と相関していた (図 3)。

経時的に血清濃度を測定した症例を提示する。症例は初診の 1 年前より微熱を伴って下腿に発赤・腫脹を繰り返し、その後視力低下を自覚、口腔内アフタ、ざ瘡出現し、当科入院した。安静と種々の治療で徐々に症状の改善と CRP の減少が認められたが、S100A8/9濃度は CRP とは少し遅れて減少した (図 4)。

## D. 考 察

S100A8/9蛋白濃度は活動期 BD において高値であり、BD の病態に強く関連していることが示唆された。しかしながら臨床症状との相関については、今後陰性例と比較検討しなければならない。また皮膚科受診による検体収集なので、眼症状のある患者血清が少なく、偏りがある可能性がある。

CRP との相関は統計学的には認められるが、高値の場合はばらつきがあり、単純に炎症反応だけを反映しているのではないようであり、さらに検討を要する。経時的に測定できた症例では CRP とは少し遅れて低下していた。RA においても慢性期の炎症を反映しているという報告もあり、興味深い。

血清 S100A8/9蛋白濃度の検討は種々に疾患で検討されていて、SLE, 全身性硬化症, 皮膚筋炎などの膠原病, 関節炎, 炎症性腸疾患で活動期に上昇しており、BD 特異的な現象ではないが、病態と関係していることが示唆された。

## E. 結 論

活動期 BD において、血清 S100A8/9濃度が有意に上昇していた。BD 病態に深く関連している可能性が示唆された。今後は① S100A8/9 と臨床症状との相関関係についての検討。② 皮膚粘膜病変部局所での発現について検討し BD のいかなる病態を反映しているか明らかにしたい。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Iwatsuki K, Yamasaki O, Morizane S, Oono T. Staphylococcal cutaneous infections: invasion, evasion and aggression. *J Dermatol Sci* 42: 203-14, 2006.
- 2) Iwatsuki K, Satoh M, Yamamoto T, Oono T, Morizane S, Ohtsuka M, Xu ZG, Suzuki D, Tsuji K. Pathogenic link between hydroa vacciniforme and Epstein-Barr virus-associated hematologic disorders. *Arch Dermatol* 142: 587-95, 2006.
- 3) Yamasaki O, Tristan A, Yamaguchi T, Sugai M, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Etienne J. Distribution of the exfoliative toxin D gene in clinical *Staphylococcus aureus* isolates in France. *Clin Microbiol Infect* 12: 585-588, 2006.
- 4) Hitomi K, Yamasaki O, Asagoe K, Iwatsuki K. A mutilating arthropathy, "Rheumatoid hands" associated with multiple synovial cysts in a patient with systemic lupus erythematosus. *J Dermatol* 33: 415-418, 2006.

### 2. 学会発表

- 1) 岩月啓氏, 山崎修, 森実真: Behcet 病の皮膚・粘膜病変の病理学的解析と autoinflammatory syndrome としての側面: 文献的レビューを含めて。ベーチェット病に関する調査研究平成 18 年度第 1 回研究班会議 (H18. 7. 21. 22 福島)
- 2) 山崎修, 森実真, 青地聖子, 辻和英, 岩月啓



氏：ベーチェット病における S100A8/9 蛋白の関与についての研究. ベーチェット病に関する調査研究 平成18年度第2回研究会議 (H 18.12. 8 - 9. 福島)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記事項なし.

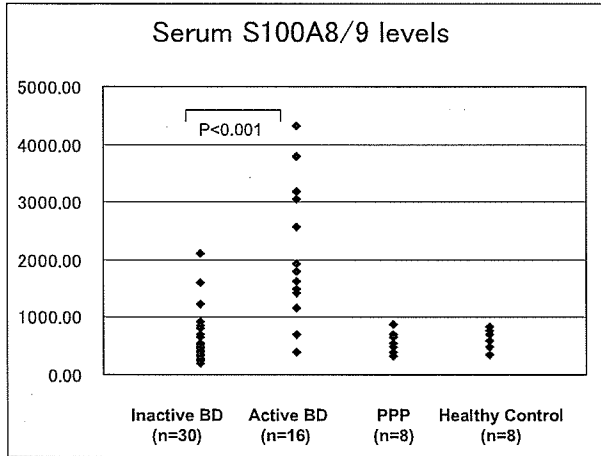


図1 血清 S100A8/9 濃度

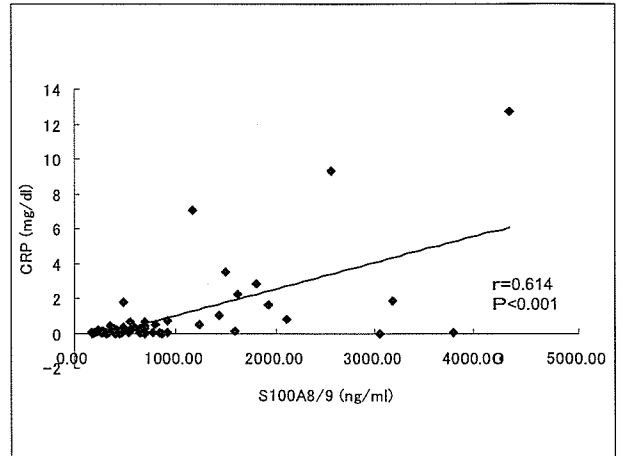


図3 血清 S100A8/9 と CRP の相関

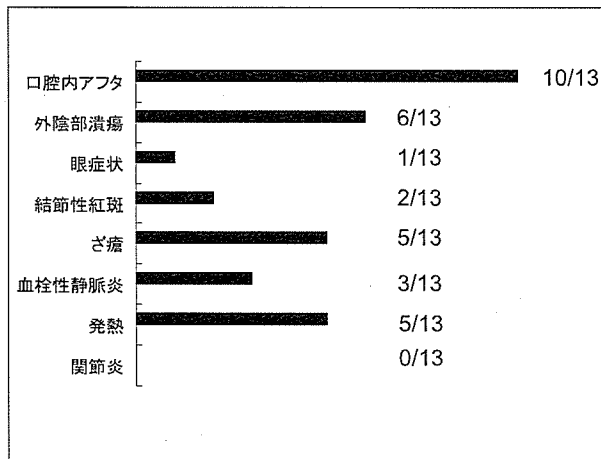


図2 S100A8/9 高値の BD における臨床症状

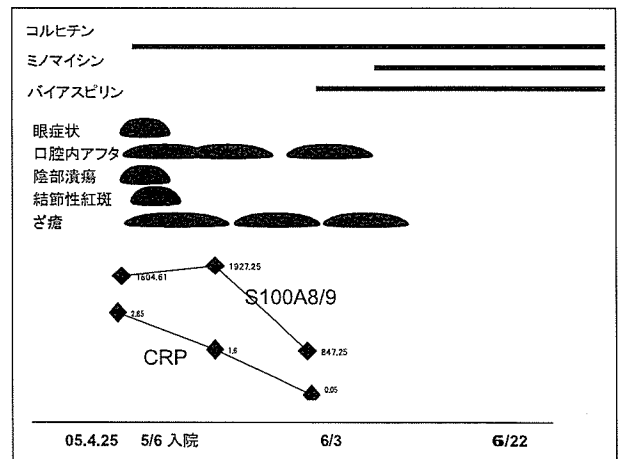


図4 経時的に測定できた症例提示

# ベーチェット病の病変局所における免疫異常及び 炎症病態に関する研究

分担研究者 鈴木 登 (聖マリアンナ医科大学医学部免疫学・病害動物学教室)  
研究協力者 黒川真奈絵 (聖マリアンナ医科大学医学部免疫学・病害動物学教室)  
奈良 和彦 (聖マリアンナ医科大学医学部免疫学・病害動物学教室)  
吉川 英志 (聖マリアンナ医科大学医学部免疫学・病害動物学教室)  
野中 信宏 (聖マリアンナ医科大学医学部総合診療内科学教室)  
松田 隆秀 (聖マリアンナ医科大学医学部総合診療内科学教室)  
池島 秀明 (昭和薬科大学薬学部薬物治療学教室)  
金子 栄 (島根大学医学部皮膚科学教室)  
森田 栄伸 (島根大学医学部皮膚科学教室)

## 研究要旨

ベーチェット病の皮膚・腸管病変部では Toll 様受容体 (TLR) 2及び TLR4の発現が認められ、単球／マクロファージ上のこれら TLR 分子を介した刺激が IL-12等の炎症性サイトカインを産生させ、Th1優位の免疫異常を惹起することが考えられた。TLR2, TLR4からの刺激を阻害すると TNF $\alpha$  及び IL-1 $\beta$ の産生が低下する傾向を認め、これらの阻害により疾患特異的な治療法が確立できる可能性が示された。神経ベーチェット病では血清中より脳脊髄液中の TNF $\alpha$  が有意に高値を示し (p < 0.002), 炎症の主座は中枢神経にあり全身的な炎症の波及ではないことが示唆された。神経ベーチェット病の病態で TNF $\alpha$  が重要であり、抗 TNF $\alpha$  療法が効果的な治療法となると考えられた。

## A. 研究目的

これまでにベーチェット病 (BD) の皮膚や腸管の病変組織で Th1優位の免疫異常および熱ショック蛋白 (HSP) 60の過剰発現を、また神経ベーチェット病 (nBD) の脳脊髄液で炎症性サイトカインの産生を認め、病態への関与を報告してきた。新たに皮膚・腸管病変部で特異的に発現する Toll 様受容体 (TLR) 分子の病態における役割を検討し、nBD では検体数を増やして中心的な役割を果たす炎症性サイトカインを解析する。

## B. 研究方法

BD の末梢血10例・皮膚病変部2例・腸管病変部4例、及び対照として炎症性腸疾患であるクローン病4例と潰瘍性大腸炎1例の病変部組織にて、RT-PCR 及び免疫染色により TLR2及び TLR4の発現を検討した。両者の発現が確認され

た患者の2例および健常人1例の末梢血より単核球を分離し、各 TLR の機能を阻害する抗体、または TLR2, TLR4とも阻害するビタミン D3の炎症性サイトカイン産生に与える影響を ELISA にて検討した。また nBD 及び対照神経疾患の脳脊髄液と血清のペア検体 (nBD: 脳脊髄液13検体、血清11検体、対照神経疾患: 脳脊髄液13検体、血清8検体) で、TNF $\alpha$ , IL-6, IFN $\gamma$ , HSP60及び抗 HSP60抗体の濃度を ELISA にて測定した。nBD は急性型2例、慢性進行型1例を含み、対照神経疾患としては、筋萎縮性側索硬化症、梅毒、脳梗塞、てんかんの各2例、ヒステリー、うつ病、ウイルス性髄膜炎、本態性振戦、傍腫瘍症候群の各1例 (計13例) を解析した。

### (倫理面への配慮)

患者および健常人検体は十分な内容説明の後、文書による同意を取得し採取した。

## C. 研究結果

BDの末梢血、皮膚病変部及び腸管病変部では検討したほぼ全例においてTLR2, TLR4の発現が見られた。しかし非活動期の皮膚病変部及び同一患者の腸管非病変部では、これらの発現は認められなかった。クローン病と潰瘍性大腸炎ではTLR4は全例で認められたが、TLR2はクローン病の2例のみで発現していた。BDの腸管病変部でTLR2を発現しているのはCD68陽性のマクロファージであり、これらは全てIL-12を発現し、HSP60陽性細胞と近接していた。またTLR2陽性マクロファージの一部に、CD3陽性T細胞と接触している像を認めた。患者末梢血中のTLR2及びTLR4を特異抗体またはビタミンD3にて阻害すると、ビタミンD3によりTLR2を介したTNF $\alpha$ の産生が、抗TLR4抗体によりTLR4を介したIL-1 $\beta$ の産生が抑制された。

nBDでは、脳脊髄液中のTNF $\alpha$ が血清中に比較し有意に上昇しており ( $p < 0.002$ )、全て健常人血清値より高値を示した。対照疾患群の脳脊髄液中TNF $\alpha$ 値も健常人血清値より高値であったが、ペアで採取した血清との有意差は認めなかった。IL-6は慢性進行型1例の脳脊髄液で高値を示したが、他の検体では健常人血清値と同程度であった。HSP60は健常人血清値と同程度であり、抗HSP抗体はnBDの血清中で脳脊髄液中より有意に高値であった ( $p < 0.00005$ )。IFN $\gamma$ はnBDの血清1例のみで検出されたが、他の検体では検出されなかった。

## D. 考察

我々はこれまでBDの皮膚・腸管病変組織においてHSP60の過剰発現を認めてきた。この受容体となるTLR2及びTLR4が、非活動期例を除くBDのほぼ全例で発現しており非病変部で認められなかったことは、これら分子の病態への関与を強く示唆する。実際TLR2陽性マクロファージは全てIL-12を発現し一部はT細胞と接触していたことから、TLRからの刺激で炎症が惹起されると共に、抗原提示能の増強による獲得免疫系の活性化やTh1への偏位を起こしている可能性が考

えられた。HSPは種間で相同性が高いため、単球/マクロファージ上に発現したTLR2及びTLR4は病原微生物が感染するとそのHSPを認識する可能性もあるが、主にはその後炎症により過剰発現した自己抗原であるHSP60に反応し、自己免疫応答が遷延化して、自然免疫系に続き獲得免疫系が活性化されると考えられる。ビタミンD3及び特異抗体によりTLR2, TLR4からの刺激伝達を障害すると炎症性サイトカインの産生が軽減され、これらの投与により疾患特異的な治療法を確立できる可能性が示された。

nBDの炎症においてはTNF $\alpha$ が重要であり、対照疾患と異なり、炎症の主座は中枢神経にあって全身的な炎症の波及ではないことが示唆された。IL-6は急性型または慢性進行型nBDの脳脊髄液において高値を示すことが報告されているが、我々の検討例では慢性進行型の1例しか高値を示さなかった。これは急性型の2例が早期から大量のステロイドを投与されていた影響が考えられる。nBDに対して抗TNF $\alpha$ 療法が効果的な治療法となると考えられた。

## E. 結論

TLR2及びTLR4は活動性の高いBD病変部に特異的に発現していることが示唆され、これら分子からの刺激を阻害することにより、BD特異的な治療法が確立できる可能性が示された。nBDの炎症病態ではTNF $\alpha$ が重要な役割を果たしており、抗TNF $\alpha$ 療法が効果的な治療法となると考えられた。

## F. 健康危険情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Suzuki N, Nara K, Suzuki T. Skewed Th1 responses caused by excessive expression of Txk, a member of Tec family tyrosine kinases in patients with Behcet's disease. Clinical Medicine and

- Research 4 (2), 147 – 151, 2006.
2. Yoshikawa H, Nara K, Suzuki N. 2006 Recent advances in neuro-endocrine-immune interactions in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Current Rheumatology Reviews*, in press.
  3. Hamada M, Yoshikawa H, Ueda Y, Kurokawa MS, Watanabe K, Sakakibara M, Akashi K, Aoki H, Suzuki N. Introduction of MASH1 gene into mouse embryonic stem cells leads to differentiation of motoneuron precursors lacking Nogo receptor expression that can be applicable for transplantation to spinal cord injury. *Neurobiology of Disease* 22 (3), 509 – 522, 2006.
  4. Kamochi H, Kurokawa MS, Yoshikawa H, Ueda Y, Masuda C, Takada E, Watanabe K, Sakakibara M, Natuki Y, Kimura K, Beppu M, Aoki H, Suzuki N. Transplantation of myocyte precursors derived from embryonic stem cells transfected with IGFII gene in a mouse model of muscle injury. *Transplantation* 82(4), 516 – 526, 2006.
  5. Yoshikawa H, Kurokawa MS, Ozaki N, Nara K, Atou K, Takada E, Kamochi H, Suzuki N. Nicotine inhibits the production of proinflammatory mediators in human monocytes by suppression of I- $\kappa$ B phosphorylation and NF- $\kappa$ B transcriptional activity through nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 7$ . *Clinical and Experimental Immunology* 146 (1), 116 – 123, 2006.
  6. 鈴木登. 胚性幹細胞の臨床応用の可能性. 聖マリアンナ医科大学雑誌34 (3), 187 – 190, 2006.
  7. Nagaya M, Kubota S, Suzuki N, Akashi K, Mitaka T. Thermoreversible gelation polymer induces the emergence of hepatic stem cells in the partially injured rat liver. *Hepatology* 43 (5), 1053 – 1062, 2006.
  8. Atoh K, Kurokawa SM, Yoshikawa H, Masuda C, Takada E, Kumagai N, Suzuki N. Induction of melanocyte precursors from neural crest cells surrounding the neural tube like-structures developed in vitro using mouse ES cell culture. *Inflammation and Regeneration*, 2007 in press.
  9. 野中信宏, 池島秀明, 黒川真奈絵, 高田えりか, 中野弘雅, 大岡正道, 今村愉子, 松田隆秀, 鈴木登. 神経ペーチェット病患者の病態形成における炎症性サイトカインの果たす役割. 聖マリアンナ医科大学雑誌34 (4), 257 – 267, 2006.
  10. Maruyama T, Nara K, Yoshikawa H, Suzuki N. Txk, a member of the non-receptor tyrosine kinase of the Tec family, forms a complex with poly (ADP-ribose) polymerase 1 and elongation factor 1a and regulates interferon-g gene transcription in Th1 cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 2007 in press.
  11. 黒川真奈絵, 尾崎志雲, 吉川英志, 鈴木登. 阻血再灌流後の腎組織障害に対する Fas 依存性アポトーシス抑制による治療効果. 炎症再生, 2007 印刷中.
  12. Takenaga M, Ohta Y, Tokura Y, Hamaguchi A, Suzuki N, Nakamura M, Okano H, Igarashi R. Plasma as a scaffold for regeneration of neural precursor cells after transplantation into rats with spinal cord injury. *Cell Transplantation*, 2007 in press.
- ## 2. 学会発表
1. 嘉山真紀, 上野宏樹, 本間龍介, 黒川真奈絵, 上野聰樹, 鈴木登. pax-6遺伝子導入によるマウス胚性幹細胞の角膜上皮細胞への分化誘導. 第5回再生医療学会. 2006年3月.
  2. 穴澤三恵, 蒲地宏昌, 黒川真奈絵, 吉川英志, 上田裕司, 増田知恵子, 高田えりか, 鈴木登. IGF II 遺伝子導入によりマウス胚性幹 ES 細胞から分化誘導された骨格筋細胞の解析. 第5回再生医療学会. 2006年3月.
  3. 上野宏樹, 嘉山真紀, 本間龍介, 黒川真奈絵, 上野聰樹, 鈴木登. Pax6遺伝子導入胚性幹 (ES) 細胞より分化誘導した角膜上皮様細胞の角膜損傷モデルへの移植治療. 第5回再生医療学会. 2006年3月.
  4. 蒲地真里, 吉川英志, 上田裕司, 黒川真奈絵, 渡辺憲史, 榊原学, 明石勝也, 別府諸兄, 青木治人, 鈴木登. Nogo 受容体欠損胚性幹細胞由来神経前駆細胞のよる脊髄損傷モデルの移植治療. 第5回再生医療学会. 2006年3月.
  5. 阿藤晃一, 黒川真奈絵, 吉川英志, 熊谷憲夫,