

に比べ、蛋白尿、BUN、糸球体病変、血管病変に軽快傾向がみとめられた。

- 3) 8週齢 MRL/lpr マウス（早期ループス腎炎モデル）に IN1130（20mg/kg）を 63 日間連日腹腔内投与したところ、投与開始 2 週後の蛋白尿を有意に抑制したが、糸球体病変や血管病変に対する長期効果はみとめられなかった。
- 4) いずれも IN1130 投与群においてリンパ腫、T 細胞の活性化の増悪や制御性 T 細胞（CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>foxp3<sup>+</sup>）の減少はみとめられなかった。

#### (2) IL-2/IL-18 誘導性関節炎に対する TGF- $\beta$ 阻害薬の効果：

- 1) 腹腔内投与により GB-431542 の効果も高まるが、毒性も上がり致死になる可能性が懸念されたが、一日 2 回投与 1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg、いずれにおいても致死にはならず、10mg/kg までの投与が可能であり、著明な間質性肺炎が生じ、1 週間以内に死亡した。
- 2) ALK-5 inhibitor である GB-431542 の腹腔内投与を行った実験群においては、病理組織学上著明な改善が認められた。
- 3) Smad3 ノックアウトマウスを維持し、2) と同様に TGF- $\beta$  シグナル制御機構の解析を行っている。

#### D. 考察

TGF- $\beta$  阻害薬（ALK-5 阻害薬、IN1130 および GB-431542）は、全身性エリテマトーデスモデルマウス、IL-2/IL-18 誘導間質性肺炎モデルマウスにおいて、それぞれ、腎炎の治療効果、間質性肺炎の予防効果が認められた。今後は、ALK-5 阻害薬の細胞内シグナル変化に関して、smad3 ノックアウトマウスを用いて、さらに、安全性の検討後臨床試験へ進む予定である。

#### E. 結論

自己免疫疾患の難治性病態（腎炎、間質性肺炎）に対する TGF- $\beta$  阻害薬による治療戦略の有効性を示す事ができた。今後、その分子機構のさらなる解明と臨床応用に向けた基盤研究を進めていく必要がある。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Iwanami, K., Matsumoto, I., Watanabe, Y., Mihara, M., Ohsugi, Y., Mamura, M., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., Kishimoto, T., and Sumida, T. Crucial role of IL-6/IL-17 cytokine axis in the induction of arthritis by glucose-6-phosphate isomerase. *Arthritis Rheum.* (in press)
2. Matsui, H., Tsutsumi, A., Sugihara, M., Suzuki, T., Iwanami, K., Kohno, M., Goto, D., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. Expression of Visfatin (pre-B cell colony-enhancing factor) gene in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* (in press)
3. Nakamura, Y., Wakamatsu, E., Tomiita, , Kohno, Y., Yokoka, J., Goto, D., Ito, S., Matsumoto I., Tsutsumi, A., and Sumida, T. High prevalence of autoantibodies to muscarinic 3 acetylcholine receptor in patients with juvenile Sjogren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 67:136-137, 2008.
4. Sugihara, M., Tsutsumi, A., Suzuki, E., Suzuki, T., Ogishima, H., Hayashi, T., Chino, Y., Ishii, W., Manura, M., Goto, D., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. The gene expressions of TNF $\alpha$ , TTP, TIA-1 and HuR in the peripheral blood mononuclear cells of patients with rheumatoid arthritis before and after infliximab therapy. *Arthritis Rheum.* 56: 2160-2169, 2007.
5. Wakamatsu, E., Nakamura, Y., Matsumoto, I., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T. DNA microarray analysis of labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 66:844-845, 2007.
6. Kim BG, Li C, Qiao W, Mamura M, Kasprzak B, Anver M, Wolfrim L, Hong S, Mushinski E, Potter M, Kim SJ, Fu XY, Deng C, Letterio JJ. Smad4 signalling in T cells is required for suppression of gastrointestinal cancer. *Nature* 441:1015-1009, 2006.
7. Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Naito, Y., Goto, D., Mamura, M., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T. Overexpression of phosphorylated STAT-1 $\alpha$  in the labial salivary glands from patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 54:3476-3484, 2006.
8. Naito, Y., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T. Altered peptide ligands regulate muscarinic acetylcholine receptor reactive T cells from patients with Sjogren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 65:269-271, 2006.
9. Kullberg MC, Hay V, Cheever AW, Mamura M,

Sher A, Letterio JJ, Shevach EM, Piccirillo CA. TGF-beta production by CD4+CD25+ regulatory T cells is not essential for suppression of intestinal inflammation. *Eur J Immunol* 35:2886-2895, 2005.

10. Naito, Y., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Goto, D., Tsutsumi, A., and Sumida, T. Muscarinic acetylcholine receptor autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Ann. Rheu. Dis* 64:510-511, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記事項なし

図1 ループス腎炎モデルマウスにおける腎病変に対する ALK-5 阻害剤の治療効果

ALK V阻害薬(IN-1130)投与後の腎病変病理評価  
(初期ループス腎炎)

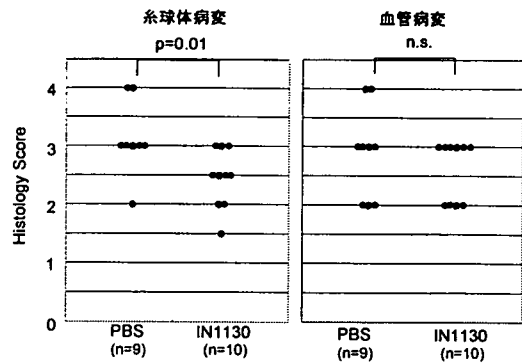
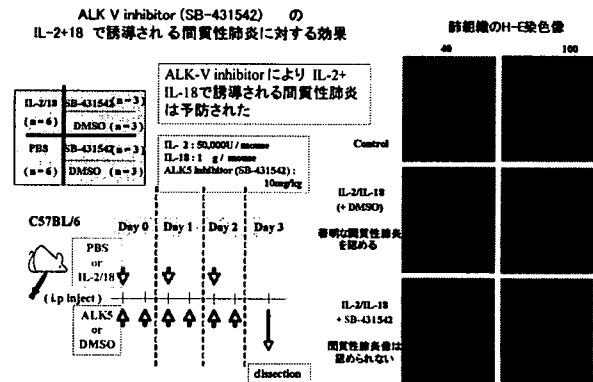


図2 IL-2+IL-18 で誘導された間質性肺炎モデルマウスに対する ALK-5 抑制剤の発症予防効果



## 関節炎に関連する新しいサイトカインに関する研究

分担研究者 山本 一彦 東京大学医学部アレルギーリウマチ内科 教授  
研究協力者 藤尾 圭志 助教、庄田 宏文 医員、山口 優美 医員  
東京大学医学部アレルギーリウマチ内科

### 研究要旨

関節炎に関係する新しいサイトカインについて、新規の治療の標的の可能性を含めた研究を行った。IL-32は末梢血での発現に加え、関節リウマチなどの炎症部位で発現が亢進しており、マウスモデルへの遺伝子導入での関節炎の増悪が観察された。IL-17ファミリーのIL-17BおよびIL-17Cについてもモデルマウスでの関節局所での発現は亢進し、中和抗体投与での関節炎抑制など、関節炎に関与する複数のサイトカインを同定し、新規治療のターゲットになりうることを示した。

### A. 研究目的

TNF- $\alpha$ は関節炎における重要な炎症メディエーターであり、治療の標的としても注目されているが、今後の新しい治療法の開発には、より多くの関節炎に関連するサイトカインを研究する必要がある。本研究では、TNF- $\alpha$ 産生を誘導するサイトカインIL-32およびIL-17サイトカインファミリー（IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F）の中でも関節炎との関連は殆ど報告されていないIL-17BとIL-17Cの関節炎との関連を調べることを目的とした。

### B. 研究方法

ヒト末梢血単核球（peripheral blood mononuclear cell; PBMC）をCon A, 抗CD3/ $\alpha$ CD28抗体で刺激し、MACSによりCD3, CD14, CD20陽性細胞に分離したあとRT-PCRにより各細胞群におけるIL-32発現をみた。RA患者の滑膜組織におけるIL-32発現をRT-PCR, *in situ* hybridizationで調べた。IL-32 $\alpha$ , IL-32 $\beta$ を、レトロウイルスを用いてマウスCD4陽性T細胞に導入し、コラーゲン誘発関節炎（collagen-induced arthritis; CIA）マウスの発症直前に移入し、関節炎の増悪効果を調べた。IL-32 $\beta$ をマウス骨髄細胞に導入し、骨髄移植によりIL-32 $\beta$

大量発現モデルを作成した。

マウスCIA炎症肢におけるIL-17サイトカインファミリー（IL-17A, IL-17B, IL-17C, IL-17F）の発現を検討した。マウスIL-17B及びIL-17CのcDNA-IRES-GFPコンストラクトを脾臓CD4陽性細胞に遺伝子導入し、この細胞をマウスに移入することによるCIAへの影響を検討した。さらにこれらのコンストラクトをレトロウイルスにより骨髄細胞へ導入し、骨髄移植を行うことで、IL-17B及びIL-17Cの骨髄キメラマウスを作成した。この骨髄キメラマウスでCIAを誘導し、また脾臓細胞の炎症性サイトカイン発現及び血中炎症性サイトカイン濃度を測定した。

### （倫理面への配慮）

すべての研究は各施設の遺伝子倫理委員会の審査を受け、承認を受けた研究計画に則って実施された。検体は匿名化され、個人情報と切り離された形で研究に提供された。

### C. 研究結果

末梢血CD3陽性T細胞では未刺激下でもIL-32発現がみられ、Con A, 抗CD3/ $\alpha$ CD28抗体刺激により発現増強がみられた。CD14陽性細胞, CD20陽性細胞は未刺激ではIL-32を発現せず、刺激により発現が

みられた。RA患者の滑膜組織ではOA患者と比較してRT-PCRでIL-32発現が著しく亢進していた。In situ hybridizationでは関節リウマチ(RA)患者の滑膜に浸潤するリンパ球にIL-32の発現亢進がみられた。

CIAマウスにおいて、関節炎発症直前にIL-32 $\beta$ 導入CD4陽性T細胞を移入すると、関節炎の発症が早まり、関節炎スコアも有意に上昇した。IL-32 $\beta$ 骨髄キメラマウスに抗II型コラーゲン抗体を投与して関節炎を誘導すると、IL-32 $\beta$ 骨髄キメラマウスで明らかな増悪が認められた。

CIAマウス炎症肢ではIL-17A, IL-17B, IL-17C, 及びIL-17Fの発現は亢進していた。IL-17Bは軟骨に、IL-17CはCD4陽性細胞・MHCクラスII陽性細胞に発現していた。IL-17A, IL-17B, IL-17C, 及びIL-17Fは腹腔マクロファージのTNF- $\alpha$ 産生を誘導した。IL-17B及びIL-17Cを遺伝子導入したCD4陽性細胞の移入によりCIAは増悪した。CIA誘導マウスの関節炎発症直後に抗IL-17B抗体を投与することにより、関節炎スコア及び組織学的スコアの改善を認めた。

#### D. 考察

IL-32は炎症性関節炎の重要なメディエーターのひとつであり、RAの病態形成に関与していると考えられた。IL-32はRA治療の新たなターゲットとなりうると考えられる。

IL-17B及びIL-17Cは関節炎局所で発現しており、どちらも生体内で過剰発現させると血清TNF- $\alpha$ 濃度の亢進を伴う関節炎の増悪を認めた。さらに抗IL-17B抗体投与により関節炎の抑制効果が認められたことから、IL-17Bは関節炎の病態形成において重要な役割を果たしていると考えられた。

#### E. 結論

関節炎に関与する複数の新規サイトカインを同定した。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Yamamoto K, Okamoto A, Fujio K. Antigen-specific immunotherapy for autoimmune diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 7:359-367, 2007.
- Okunishi K, Dohi M, Fujio K, Nakagome K, Tabata Y, Okasora T, Seki M, Shibuya M, Imamura M, Harada H, Tanaka R, Yamamoto K. Hepatocyte growth factor significantly suppresses collagen-induced arthritis in mice. *J Immunol.* 179:5504-5513, 2007.
- Fujio K, Okamura T, Okamoto A, Yamamoto K. T cell receptor gene therapy for autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 10:222-232, 2007.
- Yamamoto K, Yamada R. Lessons from a Genomewide Association Study of Rheumatoid Arthritis. *N. Engl. J. Med.* 357:1250-1251, 2007
- Yamaguchi Y, Fujio K, Shoda H, Okamoto A, Tsuno NH, Takahashi K, Yamamoto K. IL-17B and IL-17C are associated with TNF-alpha production and contribute to the exacerbation of inflammatory arthritis. *J Immunol.* 179:7128-36, 2007.
- Fujio K, Okamoto A, Araki Y, Shoda H, Tahara H, Tsuno NH, Takahashi K, Kitamura T, Yamamoto K. Gene therapy of arthritis with TCR isolated from the inflamed paw. *J Immunol.* 2006 ;177(11):8140-8147.
- Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae SC, Tokuhiro S, Chang X, Sekine A, Takahashi A, Tsunoda T, Ohnishi Y, Kaufman KM, Kang CP, Kang C, Otsubo S, Yumura W, Mimori A, Koike T, Nakamura Y, Sasazuki T, Yamamoto K. A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nature Genet.*

37:478-485, 2005.

•Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshino S, Tokuhira S, Yamamoto K.

Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 44: 40-50, 2005.

•Kawaida R, Yamada R, Kobayashi K, Tokuhira S, Suzuki A, Kochi Y, Chang X, Sekine A, Tsunoda T, Sawada T, Furukawa H, Nakamura Y, Yamamoto K. CUL1, a component of E3 ubiquitin ligase, alters lymphocyte signal transduction with possible effect on rheumatoid arthritis. *Genes Immun*. 6:194-202, 2005.

•Sagawa K, Nagatani K, Komagata Y, Yamamoto K. Angiotensin receptor blockers suppress antigen-specific T cell responses and ameliorate collagen-induced arthritis in mice. *Arthritis Rheum*. 52:1920-1928, 2005.

•Suzuki A, Yamada R, Ohtake-Yamanaka M, Okazaki Y, Sawada T, Yamamoto K. Anti-citrullinated collagen type I antibody is a target of autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun*. 333:418-426, 2005.

## 2.学会発表

1) Fujio K, Okamoto A, Yasuto A, Shoda H, Tahara H, Yamamoto K. Gene therapy of arthritis with TCR accumulated in the inflammation site. *Modern Rheumatology* 2005,16 supplement: 119.

2) Fujio K, Okamoto A, Yasuto A, Shoda H, Tahara H, Yamamoto K. Gene therapy of arthritis with TCR from a cell in the inflammatory joints. *Autoimmunity Reviews* 2006, Abstracts of 5<sup>th</sup> international congress on autoimmunity:66

## H.知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

### 1.特許取得

特になし

### 2.実用新案登録

特になし

3.その他

特になし

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

多発性筋炎に対する免疫抑制療法等先端の新規治療法に関する研究

分担研究者 上阪 等 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科膠原病・リウマチ内科学 准教授  
研究協力者 杉原 毅彦 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 大学院生  
沖山奈緒子 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 大学院生

研究要旨

【目的】 これまで、適切な動物モデルが存在しなかった多発性筋炎のマウスモデルを確立し、自己免疫性筋炎の病態解析とともに、とくにサイトカインを標的とした、新たな治療法の開発を目指す。【方法】 組換えヒトまたはマウス骨格筋 C 蛋白フラグメントを作成し、Complete Freund' s Adjuvant (CFA)ないし百日咳毒素(PT)と共に B6 マウスないし B 細胞や様々なサイトカインとその受容体の遺伝子欠損 B6 マウスに 1 回免疫した。筋炎について組織学的な評価を行い、筋力低下も評価した。筋炎筋組織浸潤炎症性細胞の免疫組織学的検討も行った。また、高用量ガンマグロブリン製剤や抗サイトカイン生物学的製剤の治療効果を評価した。モデルの洗練化のため、エピトープマッピングも試みた。【結果】 組換え C 蛋白フラグメントを B6 マウスに 1 回免疫することで、病理組織学的に多発性筋炎に類似する筋炎を起こすことに成功した。この C 蛋白誘導筋炎(CIM)は、免疫組織学的検討にて、CD8 陽性細胞傷害性 T 細胞によって筋障害が起こっていると考えられ、主に CD8 細胞によりナイーブマウスに移入することもできた。養子移入の際、移入マウスの肢が CFA 処理されている必要があった。また、CIM は一過性であるが、軽快後、再度、CFA を投与すると、投与した肢のみで筋炎が再燃した。B 細胞、TNF- $\alpha$ 、IL-17、INF $\alpha/\beta$  受容体欠損マウスでも野生型と同様に CIM を誘導出来たが、IL-1 $\alpha/\beta$  欠損マウスや IL-6 欠損マウスで筋炎の発症が抑制された。ヒト多発性筋炎で治療効果のある免疫グロブリン大量療法は CIM にも奏功した。また、抗 TNF- $\alpha$  抗体、IL-1 受容体アンタゴニスト、抗 IL-6 受容体抗体投与は全て、治療効果を発揮した。【結論】 世界に先駆けて、多発性筋炎の病態を反映するモデルマウスを、遺伝解析の容易な B6 マウスで確立しえた。自己反応性 T 細胞成立と、局所の自然免疫活性化にて、その T 細胞が筋組織破壊を許される過程を分離出来る筋炎の養子移入システムも確立した。また、CIM におけるクラス I エピトープ候補が見出された。CIM では、IL-1、6 は発症に重要だが、TNF- $\alpha$ 、B 細胞、I 型 INF、IL-17 は必須ではない。既存の生物学的製剤や免疫グロブリン大量療法は CIM に奏功している。このように、自己免疫性筋炎の病態研究が進み、あらたな治療法開発が加速している。

A. 研究目的

特定疾患の一つである多発性筋炎(PM)は原因不明の炎症性筋疾患で、非特異的な免疫抑制療法が行われてきた。しかし、副作用顕在化や治療抵抗性の症例も認められ、PMの病態に合わせたより選択的な治療法の開発が望まれる。

しかし、多発性筋炎には、これまで、適切な動物モデルが存在しなかったために、病態解析や、特異的治療法開発が遅れてきた。我々は、新しく

多発性筋炎のマウスモデルを確立し、自己免疫性筋炎の病態解析とともに、とくにサイトカインを標的とした、新たな治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

ヒトまたはマウス骨格筋 C 蛋白フラグメントを遺伝子組み換え技術を用いて精製し、Complete Freund' s Adjuvant (CFA)と混合してアジュバントを作成、B6 マウスの背部と足底に

1回皮内注射するとともに、百日咳毒素(PT)を腹腔内投与した。同様に、B細胞欠損マウスや、interleukin (IL)-1 $\alpha$ / $\beta$ 、tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 、IL-6、IL-17、interferon (IFN)- $\alpha$ / $\beta$ 受容体、それぞれの遺伝子欠損B6マウスにも免疫した。これらのマウスの大腿筋について組織学的解析にて筋炎評価を行い、筋力低下も評価した。筋炎筋組織は、浸潤炎症性細胞の免疫組織学的検討も行った。

また、高用量ガンマグロブリン製剤や、すでに市販化されている抗サイトカイン生物学的製剤(IL-1受容体アンタゴニスト、抗TNF- $\alpha$ 抗体、抗IL-6受容体抗体)の治療効果を評価した。

モデルの洗練化のため、MHCクラスIエピトープマッピングを試みた。C蛋白第2断片のアミノ酸配列のうち、理論的にMHCクラスI(K<sup>b</sup>ないしD<sup>b</sup>)親和性の高いペプチドを24個合成し、このペプチド群を用いて、RMA-S細胞アッセイを行い、またペプチド提示細胞に対するC蛋白フラグメント免疫マウスの脾細胞やCIMマウスリンパ節細胞の細胞傷害機能を検討するために、Cr リリースアッセイを行った。

#### (倫理面への配慮)

本研究では、ヒト検体は用いなかった。動物実験に関しては、研究機関の動物実験基本指針に従い、動物福祉の観点からも適切な処置を行った。

### C. 研究結果

ヒトまたはマウス組換えC蛋白フラグメントをB6マウスに1回免疫することで、病理組織学的に多発性筋炎に類似する筋炎を起こすことに成功した。このC蛋白誘導筋炎(CIM)は、免疫組織学的検討にて、CD8陽性細胞傷害性T細胞がCD4陽性T細胞よりも、筋の未壊死部位に優位に多く浸潤しており、筋線維内に浸潤する像も見られたため、ヒト多発性筋炎と同様に、CD8陽性細胞傷害性T細胞により、筋障害が起こっていると考えられた。また、CIMマウスの大腿筋所属リンパ節細胞をナイーブマウスに移入することで筋炎を養子移入することが出来たが、これはCD8陽性T細胞だけを移入することでも可能であった。この養子移入の際、移入マウスの足底にCFA皮内投与されている必要があった。また、CIMは一過性であるが、軽快後、再度、CFAを足底皮内投与すると、投与した肢のみで筋炎が再燃した。B細胞欠

損マウスでも、野生型と同様にCIMを誘導できた。

TNF- $\alpha$ 、IL-17、INF- $\alpha$ / $\beta$ 受容体欠損マウスでも、野生型と同様にCIMを誘導出来たが、IL-1 $\alpha$ / $\beta$ 欠損マウスやIL-6欠損マウスでは、CIMの発症が抑制された。ヒト多発性筋炎で治療効果のある免疫グロブリン大量療法はCIMにも奏功した。また、抗TNF- $\alpha$ 抗体、IL-1受容体アンタゴニスト、抗IL-6受容体抗体投与は全て、CIM発症後からでも治療効果を発揮した。

理論的にMHCクラスI(K<sup>b</sup>ないしD<sup>b</sup>)親和性の高い24個の合成ペプチドのうち、RMA-S細胞のクラスI発現を誘導したのは18個であり、最も強く誘導したK<sup>b</sup>拘束性ペプチドを提示させたEL-4細胞に対して、C蛋白フラグメント免疫マウス脾細胞は細胞傷害性があった。CIMマウスリンパ節細胞にも弱い細胞傷害性が見られた。

### D. 考察

世界に先駆けて、CD8陽性細胞傷害性T細胞によって筋障害が起こっている多発性筋炎の病態を反映するモデルマウスを、遺伝解析の容易なB6マウスに筋抗原であるC蛋白フラグメントを免疫することで確立し、C蛋白誘導性筋炎(CIM)と名付けた。CIMは、B細胞非依存性に発症するため、病態には抗体の関与はないものと考えられるが、皮膚筋炎や多発性筋炎と同様、高用量ガンマグロブリン療法が奏効した。CIMにおいて、自己反応性T細胞成立と、局所の自然免疫活性化にて、そのT細胞が筋組織破壊を許される過程を分離出来る筋炎の養子移入システムも確立した。このモデルのMHCクラスIエピトープ候補も見出された。モデルの洗練化には、さらなる検証が必要である。

自然免疫活性化にて産生されるサイトカインのうち、IFN $\alpha$ / $\beta$ が、全身性エリテマトーデス患者の病態に関わっているということが指摘されているが、同じことが皮膚筋炎(DM)やPMでも言える可能性がある。DM患者の筋組織、末梢血血球、皮膚病変部位で、IFN $\alpha$ / $\beta$ が発現しているという報告が相次いで発表され、DMの筋組織の筋内膜には、IFN $\alpha$ / $\beta$ の主な供給源である形質細胞性樹状細胞が、多数浸潤している。他疾患の治療のためにIFN- $\alpha$ を投与された患者がDMやPMを発症したという症例報告もあり、IFN $\alpha$ / $\beta$ もPM/DMの治療標的となりうると考えられた。CIM発症にもIFN $\alpha$ / $\beta$ の関与が考えられたが、必須ではなかった。

一方、自然免疫活性化で産生される炎症性サイトカインでは、IL-1とIL-6はCIM発症に必須であったが、TNF- $\alpha$ やIL-17は必須でなかった。IL-17産生ヘルパーT細胞(Th17)は現在、collagen-induced arthritis (CIA) や experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)などの自己免疫疾患モデルマウスの研究から、自己免疫疾患の中心的な役割を果たしていると言われ、実際、IL-17KOマウスでは、CIAやEAEの発症が抑制されることがすでに報告されている。このTh17は、ナイーブT細胞から、tumor growth factor (TGF)- $\beta$ とIL-6の作用を受けて誘導される。しかし、CIMは、IL-17KOマウスでも誘導できた。このことは、IL-17はすべての自己免疫疾患に必須であるわけではないことを示している。

また、抗TNF- $\alpha$ 抗体は、CIMでは治療効果があった。すでにヒト皮膚筋炎や多発性筋炎へ投与した症例報告もあるが、効果については、一定した結論が出ていない。今後は、IL-1受容体アンタゴニスト、抗IL-6受容体抗体も、自己免疫性筋炎への治療応用が期待できる。

## E. 結論

世界に先駆けて、多発性筋炎の病態を反映するモデルマウスを、遺伝解析の容易なB6マウスで確立しえた。自己反応性T細胞成立と、局所の自然免疫活性化にて、そのT細胞が筋組織破壊を許される過程を分離出来る養子移入システムも確立した。

CIMは、B細胞非依存性で、また、Th17にも非依存性の自己免疫疾患モデルであり、筋線維傷害はCD8陽性細胞傷害性T細胞が担っていると考えられた。

自然免疫活性化によって産生されるサイトカインのうち、CIMでは、IL-1、IL-6は発症に必須だが、TNF- $\alpha$ 、INF $\alpha/\beta$ は必須ではない。一方で、既存の生物学的製剤による、IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ を標的とした阻害療法は、それぞれCIMへの治療効果を認めた。また、免疫グロブリン大量療法も、CIMに奏功している。

このように、自己免疫性筋炎の病態研究が進み、あらたな治療法開発が加速している。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Sugihara T, Sekine C, Nakae T, Kohyama K, Harigai M, Iwakura Y, Matsumoto Y, Miyasaka N, and Kohsaka H. A new murine model defines critical mediators in the pathology and treatment of polymyositis Arthritis Rheum 56(4):1304-1314, 2007

### 2. 学会発表

T. Sugihara, C. Sekine, T. Nakae, M. Suzuki, N. Okiyama, K. Kohyama, M. Harigai, Y. Iwakura, Y. Matsumoto, N. Miyasaka, H. Kohsaka. A New Murine Model of Polymyositis Revealed Differential Requirement of Inflammatory Cytokines for Autoimmune Myositis. ACR 69th Annual Scientific Meeting, San Diego, USA November, 2005

T. Sugihara, C. Sekine, T. Nakae, M. Suzuki, N. Okiyama, K. Kohyama, M. Harigai, Y. Iwakura, Y. Matsumoto, N. Miyasaka, H. Kohsaka. A new murine model defines critical mediators in the pathology and treatment of polymyositis. 5th International Congress On Autoimmunity, Sorrento, Italy, December, 2006

N. Okiyama, T. Sugihara, H. Yokozeki, N. Miyasaka, H. Kohsaka; A new mouse model of polymyositis indicates IL-6 as a therapeutic target. Keystone Symposia, New Mexico, USA, March, 2007

杉原 毅彦、関根 知世子、針谷 正祥、神山 邦子、松本 陽、宮坂 信之、上阪 等；新規多発性筋炎モデルマウスの確立、第49回日本リウマチ学会総会、横浜、2005年4月

杉原 毅彦、関根 知世子、針谷 正祥、神山 邦子、松本 陽、宮坂 信之、上阪 等；多発性筋炎の新規モデルマウスにおける炎症性サイトカインの関与についての検討 第35回日本免疫学会総会、横浜、2005年12月

杉原毅彦、関根知世子、針谷正祥、神山邦子、松本陽、中江孝、宮坂信之、上阪等。多発性筋炎の病態解析と新規治療法の開発に有用なモデルマウスの確立。第50回日本リウマチ学会総会、長崎、2006年4月。

杉原毅彦、関根知世子、針谷正祥、神山邦子、松本陽、宮坂信之、上阪等。多発性筋炎の病態解析と新規治療法の開発に有用なモデルマウス



の確立. 第35回日本免疫学会総会、大阪、2006年12月.

杉原毅彦、沖山奈緒子、宮坂信之、上阪 等. 新規多発性筋炎モデルマウスにおけるIL-1レセプターアンタゴニストの治療効果の検討. 第51回日本リウマチ学会総会、横浜、2007年4月

沖山奈緒子、杉原毅彦、横関博雄、宮坂信之、上阪 等. 新規モデルマウスが示す多発性筋炎 Interleukine-6 標的治療の有効性. 第51回日本リウマチ学会総会、横浜、2007年4月

沖山奈緒子、杉原毅彦、横関博雄、宮坂信之、上阪 等. 多発性筋炎新規モデルマウスが示す Interleukine-6 の役割とその標的治療の有効性. 第35回日本臨床免疫学会総会、大阪、2007年11月

#### H.知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

##### 1. 特許取得

2006年12月27日日本国特許出願 IL-6 アンタゴニストを有効成分とすることを特徴とする炎症性筋疾患治療剤(出願番号:特願 2006-351695)

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

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

病原性 T 細胞の分化およびサイトカイン産生制御機構に関する研究

分担研究者 山村 隆 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 部長  
研究協力者 大木 伸司 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 室長

研究要旨

Th1 細胞・Th17 細胞等の産生する炎症性サイトカインは、多発性硬化症 (Multiple Sclerosis: MS) の病態形成に深く関わるということが明らかになっている。我々は、病原性 T 細胞の機能解析を目的として、まず DNA マイクロアレイ法を用いて MS 患者末梢血 T 細胞の網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、MS 患者で選択的に発現亢進する遺伝子群の中から、最も有意な発現差異を認めた分子として NR4A2 を同定し、病態との関連を解析した。MS の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) 発症マウスの中枢神経浸潤 T 細胞でも NR4A2 の発現亢進が認められた。T 細胞株を用いたレポーター遺伝子アッセイとレトロウイルスを用いた遺伝子導入による機能解析により、NR4A2 が IL-17、IFN- $\gamma$  等のサイトカイン産生を増強することを示した。NR4A2 特異的 siRNA は、ヒト末梢血 CD4+T 細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制し、PLP 特異的マウス T 細胞による passive EAE の発症をも抑制した。NR4A2 は炎症性サイトカイン産生の鍵を握る転写因子であることが明らかとなり、同分子を標的とする新しい治療法の可能性が示された。一方、近年レチノイン酸 (RA) シグナルが、Th17 細胞の分化制御に関わることが示されているが、APL 治療薬である合成レチノイド Am80 も、*all-trans* レチノイン酸 (ATRA) と同程度の Th17 細胞分化抑制活性を有することを見出した。Am80 の経口投与により、IL-17 産生の減少に伴って EAE の発症は有意に抑制された。高い受容体サブタイプ選択性を有する Am80 は、副作用のリスクだけでなく脂溶性や血中半減期など医薬品としての体内動態も ATRA より優れており、すでに APL や乾癬の治療薬として使用されていることから、適用拡大による有望な新規自己免疫性脳脊髄炎治療薬候補であることが示された。

A. 研究目的

多発性硬化症 (Multiple Sclerosis: MS) は、Th1 細胞・Th17 細胞等の産生する炎症性サイトカインが病態形成に深く関わる。MS 患者末梢血 T 細胞の DNA マイクロアレイ解析から、最も有意な発現差異を認めたオーファン核内受容体 NR4A2 に着目し、T 細胞における NR4A2 の機能を、病態との関連に焦点を絞って解析した。また、Th17 細胞分化の制御因子として知られる ATRA の機能に着目し、合成 RAR アゴニスト Am80 の MS 治療薬としての可能性を検証すべく、Th17 細胞の分化制御能と EAE に対する抑制効果を解析した。

B. 研究方法

DNA マイクロアレイ解析結果の検証のため、定量 PCR 法を用いて MS 末梢血 T 細胞の NR4A2 発現を解析した。C57BL/6 (B6) マウスに MOG<sub>35-55</sub> ペプ

チドを免疫することにより、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: EAE) を誘導した。脳脊髄 (CNS) 浸潤細胞、所属リンパ節細胞、脾臓細胞より分離した T 細胞から RNA を分離し、逆転写反応後定量 PCR 法を用いて NR4A2 の発現を定量した。CNS 浸潤 T 細胞のサイトカイン産生を、ELISA 法ならびに細胞内サイトカイン染色法を用いて解析した。T 細胞株に、NR4A2 発現プラスミドと、サイトカイン (IL-17、IFN- $\gamma$ 、IL-2) のレポーター遺伝子を導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。レトロウイルスベクターを用いて、ヒト末梢血 CD4 T 細胞に NR4A2 分子を過剰発現させ、抗 CD3 抗体刺激後のサイトカイン産生を細胞内サイトカイン染色法により解析した。同様に、ヒト末梢血 CD4 T 細胞に、NR4A2 の siRNA を導入し、抗 CD3 抗体刺激後のサイトカイン産生を、ELISA 法

にて定量した。PLP ペプチドを免疫して誘導した PLP 特異的マウス T 細胞を移入して passive EAE を誘導した。

B6 マウス由来脾臓 T 細胞を Th17 細胞誘導条件下 (IL-6; 20 ng/ml) / TGF- $\beta$ ; 5 ng/ml) で合成レチノイドを添加して抗 CD3/CD28 抗体で刺激し、抗 CD3 抗体で再刺激後の Th17 細胞分化を比較した。培養後の細胞から RNA を抽出し、Th17 細胞分化のマスター遺伝子である ROR $\gamma$ t の発現を比較した。B6 マウスに EAE を誘導し、CMC に懸濁した合成レチノイドの経口投与による EAE 抑制効果を比較した。

### (倫理面への配慮)

採血に当たっては、ドナーに対して十分な説明を行った後、書面により同意を確認して行った。また個人情報保護についても十分な配慮を払った。動物実験に関しては、当研究所の動物実験規定に従い、実験計画書の承認を受けて行った。

### C. 研究結果

DNA マイクロアレイ解析データの検証のために試行した定量 PCR 法により、MS 患者由来末梢血 T 細胞で有意な NR4A2 の発現亢進 (約 5 倍) を確認した。B6 マウスに MOC<sub>35-55</sub> ペプチドを免疫して誘導した EAE において、CNS 浸潤 T 細胞で、病勢に相関した NR4A2 の発現亢進を認めた。同じ CNS 浸潤 T 細胞のサイトカイン産生能を調べると、細胞内染色法で約 30% の細胞が IL-17 産生細胞であった。T 細胞株を用いたレポータージーンアッセイでは、NR4A 発現プラスミドの導入で、IL-17、IFN- $\gamma$ 、IL-2 の産生が増強した。レトロウイルスベクターを用いて、ヒト末梢血 CD4 T 細胞に NR4A2 分子を過剰発現させると、IL-17 および IFN- $\gamma$  産生が亢進した。ヒト末梢血 CD4 T 細胞に、NR4A2 の siRNA を導入すると、抗 CD3 抗体刺激後の IL-17、IFN- $\gamma$ 、IL-2 の産生は有意に抑制された。NR4A2 の siRNA は、PLP 特異的マウス T 細胞の移入による passive EAE の発症をも抑制した。

ATRA を Th17 細胞分化誘導時に添加することで、抗 CD3 抗体による再刺激後の IL-17 産生は顕著に抑制された。また APL および乾癬の治療薬である合成レチノイド Am80 (タミバロテン) も、再刺激後の IL-17 産生を ATRA 同様顕著に抑制した。一方、RAR アンタゴニストである合成レチノイド LE540 を Th17 細胞分化時に添加する

と、内在性レチノイドによる RAR の活性化阻害による顕著な IL-17 産生亢進が認められた。ATRA および Am80 の作用発現は Th17 細胞分化誘導時に限られており、IL-6/TGF- $\beta$  非存在下の 1 次刺激時および Th17 細胞分化誘導後の 2 次刺激時の添加では、IL-17 産生への影響は認められなかった。さらに、EAE 誘導開始時より Am80 を経口投与 (3 mg/kg; 隔日投与) すると、未処理群に比べて EAE の発症が有意に抑制された。一方、LE540 の経口投与 (3 mg/kg; 隔日投与) は、発症後期にはむしろ病態を悪化させる経口投与が認められ、Th17 細胞分化の亢進による過剰な IL-17 産生の可能性が示唆された。

### D. 考察

DNA マイクロアレイ解析により、MS 患者末梢血で遺伝子発現の亢進を認めた NR4A2 は、MS のマウスモデルである EAE でも、CNS 浸潤 T 細胞に発現の亢進を認めた。CNS に浸潤した T 細胞には、Th17 細胞が多数含まれており、一連の解析から NR4A2 の有無が T 細胞からの IL-17 産生を変化させることから、NR4A2 は IL-17 の産生制御を介して MS の病態に深く関わる分子である可能性が示された。これは、NR4A2 特異的 siRNA を用いた *in vitro*、*in vivo* の解析からも確認された。今後、NR4A2 の機能修飾を指標とした小分子化合物のスクリーニングを通じて、MS をはじめとする種々の自己免疫疾患に対する NR4A2 をターゲットとした新規治療法の開発につながるものと期待している。

Th17 細胞産生の選択的抑制は自己免疫病態制御を可能にする新規治療薬の最有力候補となりうるが、RAR のナチュラルリガンドである ATRA は、既報通り Th17 細胞の分化を制御し、再刺激後の IL-17 産生を著しく抑制した。一方 RAR $\alpha$ / $\beta$  受容体選択的アゴニスト Am80 も、同様の Th17 細胞分化抑制作用を示し、Am80 の経口投与により、EAE の発症が抑制された。高い受容体サブタイプ選択性を有する Am80 は、副作用のリスクだけでなく脂溶性や血中半減期など医薬品としての体内動態も ATRA より優れており、すでに治療薬として臨床上使用されていることから、適用拡大による有望な新規自己免疫性脳脊髄炎治療薬候補であると考えている。

### E. 結論

MS 患者 T 細胞の DNA マイクロアレイ解析を通じ

て同定した NR4A2 は、IL-17 をはじめとする炎症制サイトカイン産生制御能を有する分子であることが示された。また ATRA 同様の機能を想定して解析をすすめた合成レチノイド Am80 は、RAR を介した Th17 細胞分化制御能を有することが明らかとなった。炎症性サイトカインの選択的な制御を可能にするこれらのユニークな解析結果は、将来 MS の新規治療法に通ずる新しい知見を与えるものと考えている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(英文雑誌)

Satoh, J-i., M. Nakanishi, F. Koike, S. Miyake, T. Yamamoto, M. Kawai, S. Kukuchi, K. Nomura, K. Yokoyama, K. Ota, T. Kanda, T. Fukazawa and T. Yamamura: Microarray analysis identifies an aberrant expression of apoptosis and DNA damage-regulatory genes in multiple sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 18:537-550, 2005

Chiba, A., S. Kaieda, S. Oki, T. Yamamura and S. Miyake: The involvement of V $\alpha$ 14 NKT cells in the pathogenesis of murine models of arthritis. *Arthr. Rheumat.* 52: 1941-1948, 2005

Oki, S., C. Tomi, T. Yamamura, and S. Miyake: 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. *Int. Immunol* 17:1619-1629, 2005

Miyamoto, K., S. Miyake, M. Mizuno, N. Oka, S. Kusunoki, and T. Yamamura: Selective COX-2 inhibitor celecoxib prevents experimental autoimmune encephalomyelitis through COX-2 independent pathway. *Brain* 129(Pt 8):1984-92. Epub 2006 Jul 10, 2006

Aranami, T., S. Miyake and T. Yamamura: Differential expression of CD11c by peripheral blood NK cells reflects temporal activity of multiple sclerosis. *J. Immunol.* 177: 5659-5667, 2006

Kaieda, S., S. Oki, C. Tomi, T. Yamamura and S. Miyake: Activation of invariant natural killer T cells by synthetic glycolipid ligands suppresses

autoantibody-induced arthritis. *Arthr. Rheumat.* 56:1836-1845, 2007

Sato, W., T. Aranami, and T. Yamamura: Cutting Edge. Human Th17 cells are identified as bearing CCR2+CCR5-phenotype. *J. Immunol.* 178:7525-7529, 2007

Sakuishi, K., S. Oki, M. Araki, S.A. Porcelli, S. Miyake, and T. Yamamura: Invariant NKT cells biased for IL-5 production act as crucial regulators of inflammation. *J. Immunol.* 179: 3452-3462, 2007

Yamamura, T.: Interleukin 17-producing T-helper cells and autoimmune diseases: Time for a paradigm shift? *Current Rheumatology Reports* 9:93-95, 2007

(和文雑誌)

荒浪利昌, 山村 隆: 多発性硬化症の病態 -免疫調節機構の破綻. *医学のあゆみ* 219: 5047-5050, 2006

山村 隆, 荒浪利昌: MS FRONTIER. 多発性硬化症のバイオマーカー. *Current Insights in Neurological Science.* 15:10-11, 2007

佐藤和貴郎, 荒浪利昌, 山村 隆: Th17細胞と自己免疫疾患. *神経免疫学* 15:227-234, 2007

佐藤 和貴郎, 荒浪利昌, 山村 隆: 話題. ヒト Th17細胞におけるケモカインリセプターの発現. *臨床免疫・アレルギー科* 49:89-94, 2008

### 2. 学会発表

(国際学会)

Aranami, T., S. Miyake and T. Yamamura: NK cell phenotypes in MS: CD11c versus CD95 expression in remission state of MS. 21th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Thessalonili, Greek, September 30, 2005

Oki, S., C. Tomi, T. Yamamura, and S. Miyake: preferential Th2 polarization by OCH is supported by incompetent NKT cell induction of CD40-L and following production of inflammatory cytokines by bystander cells in vivo. International symposium: Autoimmunity in intractable diseases- From Bench to Clinic, supported by Japan Intractable Diseases Research Foundation, Hakone, Oct 26, 2005

Doi, Y., J-i. Satoh, T. Aranami, and T. Yamamura: NR4A2 (Nurr1), an orphan nuclear receptor, is overexpressed in peripheral blood T lymphocytes of multiple sclerosis. International symposium: Autoimmunity in intractable diseases- From Bench to Clinic, supported by Japan Intractable Diseases Research Foundation, Hakone, Oct 26, 2005

Sakuishi, K., T. Aranami, S. Oki, S. Miyake, and T. Yamamura: Exogenous IL-2 promotes IL-5 production by human CD4+ NKT cell clones: The role of IL-2 in the immune regulation. International symposium: Autoimmunity in intractable diseases- From Bench to Clinic, supported by Japan Intractable Diseases Research Foundation, Hakone, Oct 26, 2005

Sakuishi, K., T. Aranami, S. Oki, S. Miyake and T. Yamamura: IL-2 costimulates IL-5 production by CD1d-reactive human CD4+ NKT cells: A novel pathway controlling NKT cell mediated Th2 response. Annual Meeting of The American Association of Immunologists. Boston, May 14, 2006

Sato W, Aranami T, and Yamamura T: CCR2 as a marker for human T-cells producing IL-17. Oral abstract session. Cytokines/Chemokines. NK T-cells and innate immunity. FOCIS 6th Annual Meeting. San Francisco, 6.2, 2006

Oki, S., T. Yamamura, and S. Miyake: Molecular mechanism of differential cytokine production by altered glycolipid ligand-stimulated natural killer T cells. 20<sup>th</sup> IUBB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11<sup>th</sup> FAOBMB Congress, Kyoto, 6.21, 2006

Aranami, T., S. Miyake, T. Yamamura: CD11c expression on peripheral blood NK cells is a disease biomarker reflecting activity of multiple sclerosis. 22nd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis. Madrid, Spain. 9. 29, 2006.

Sakuishi, K., S. Miyake, and T. Yamamura: Control of IL-5 production in CD1d-reactive human CD4+ NKT cell clones from M patients following exogenous IL-2 co-stimulation. Poster Session 5. Immunology. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 16, 2006

Oki, S., T. Yamamura, and S. Miyake: Natural killer T cell ligand OCH as a potential therapeutics for

multiple sclerosis: Mechanism for OCH-induced Th2 polarization in vivo. Poster Session 5. Immunology. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 16, 2006

Sato, W., T. Aranami, and T. Yamamura: CCR2 as a marker for human T cells producing IL-17. Poster Session 5. Immunology. 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (ISNI 2006), Nagoya, October 16, 2006

Aranami T, Miyake S, and Yamamura T: CD11c on NK cells mirrors the temporal disease activity of multiple sclerosis. FOCiS 2007, San Diego, USA, 6.10, 2007

Doi Y, Oki S, Miyake S, and Yamamura T: Functional involvement of NR4A2 in the pathogenesis of multiple sclerosis. FOCiS 2007, San Diego, USA, 6.10, 2007

Oki S, Fujita M, Ootsuka T, Tomi C, Mizuno M, Kaieda S, Yamamura T, and Miyake S: Functional analysis of carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 in experimental autoimmune encephalomyelitis. FOCiS 2007, San Diego, USA, 6.10, 2007

Doi, Y., S. Oki, S. Miyake, and T. Yamamura: Functional involvement of NR4A2 in the pathogenesis of multiple sclerosis. The 20th NAITO Conference on Innate Immunity in Medicine and Biology [III], Shonan Village Center, 10.11, 2007

(国内学会)

荒浪利昌、三宅幸子、山村 隆: NK細胞におけるCD11c発現上昇は、多発性硬化症寛解期の特異な一群を同定する。第46回日本神経学会総会、鹿児島、2005年5月26日

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年5月26日

Aranami, T., S. Miyake, and T. Yamamura: Multiple sclerosis and upregulation of CD11c on NK cells: NK cell phenotypes mirror disease activity. 第35回日本免疫学会総会・学術集会、横浜、2005. 12. 13

任海千春、大木伸司、山村 隆、三宅幸子: OCHによるNKT細胞依存性Th2誘導における免疫ネットワ

一クの関与. 第35回日本免疫学会総会・学術集会, 横浜, 2005. 12. 13

Sakuishi, K., T. Aranami, S. Oki, S. Miyake, and T. Yamamura: Exogenous IL-2 promotes IL-5 production by human CD4<sup>+</sup> NKT cell clones: The role of IL-2 in the immune regulation. 第35回日本免疫学会総会・学術集会, 横浜, 2005. 12. 13

宮本勝一, 楠 進, 三宅幸子, 山村 隆: 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) に対する COX-2 阻害剤を用いた治療. 第18回日本神経免疫学会学術集会, 名古屋, 2006. 3. 2

Sato, W., T. Aranami and T. Yamamura: Human Th17 cells are identified as bearing CCR2+CCR5<sup>-</sup> phenotype. 第36回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 2006. 12. 12

Satoh, J., M. Kawai, H. Tabunoki, T. Kanda, and T. Yamamura: Microarray analysis CXCR3 ligand chemokines as immediate early IFN-responsive genes in peripheral blood lymphocytes in vitro and in vivo. 第36回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 2006. 12. 12

Doi, Y., S. Oki, S. Miyake, and T. Yamamura: Functional analysis of NR4A2, an orphan nuclear receptor, on the development of autoimmune encephalomyelitis. 第36回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 2006. 12. 12

作石かおり, 三宅幸子, 山村 隆: IL-2 を介したヒト CD4 陽性 NKT 細胞クローンによる Th2 サイトカインの選択的産生. 第36回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, 2006. 12. 13

土居芳充, 大木伸司, 三宅幸子, 山村 隆: 多発性硬化症における病原性 T 細胞のサイトカイン産生制御機構. 第19回日本神経免疫学会学術集会, 金沢, 2007. 4. 12

荒浪利昌, 三宅幸子, 山村 隆: MS 寛解期ナチュラルキラー細胞 CD11c は疾患活動性を反映する. 第19回日本神経免疫学会学術集会, 金沢, 2007. 4. 12

土居芳充, 大木伸司, 三宅幸子, 山村 隆: 多発性

硬化症における病原性 T 細胞のサイトカイン産生制御機構. ワークショップ 2, 第35回日本臨床免疫学会, 大阪, 2007. 10. 19

横手裕明, J. Ludovic Croxford, 水澤英洋, 大木伸司, 三宅幸子, 山村 隆: 実験的自己免疫性脳脊髄炎における腸内フローラの役割に関する検討. ワークショップ 2, 第35回日本臨床免疫学会, 大阪, 2007. 10. 19

Sato, W., T. Aranami, and T. Yamamura: ヒトの Th17 細胞は CCR2+CCR5<sup>-</sup> の表現型を示す. ワークショップ 38 ヘルパー T 細胞. 第37回日本免疫学会総会, 東京, 2007. 12. 22

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

### 1. 特許取得

#### 1) 発明の名称

IL-17 産生抑制物質およびそのスクリーニング方法

発明者: 大木伸司, 三宅幸子, 山村 隆 他一名  
出願予定日: 2007年2月28日

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団  
出願番号または公開番号: C0061223

#### 2) 発明の名称

IL-17 に起因する炎症を改善するための医薬組成物

発明者: 大木伸司, 三宅幸子, 山村 隆 他一名  
出願予定日: 2007年2月28日

出願人: 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団  
出願番号または公開番号: C0061224

### 2. 実用新案登録

特になし

#### 3. その他

特になし

## 制御性T細胞を用いた自己免疫の抑制に関する研究

分担研究者 坂口志文 京都大学再生医科学研究所 教授

### 研究要旨

免疫制御に不可欠な細胞である制御性T細胞の制御法開発は、免疫疾患に対する免疫抑制療法などの新規治療法開発につながりうる。本研究では、制御性T細胞の分子マーカーの探索とその解析、および制御性T細胞の機能制御を司る転写因子の解析により、分子レベルでの制御性T細胞の機能制御メカニズムの解明をめざした。研究成果として、(1)制御性T細胞特異的な単クローン抗体であるTH6を作製し、TH6の認識分子として4型葉酸受容体を同定した。TH6抗体投与によりマウスに自己免疫病を誘導することができた。(2)制御性T細胞の機能発現にFoxP3-AML1複合体が必要であることを明らかにした。これらの因子は制御性T細胞の機能制御を通じた免疫制御法開発のための候補であると考えられた。

### A. 研究目的

正常個体中には、免疫反応を抑制し、自己免疫病の発症を回避させている特殊なCD4<sup>+</sup>T細胞である制御性T細胞が存在する。このT細胞群は、CD25分子および転写因子FoxP3を恒常的に発現する。FoxP3の遺伝子異常は制御性T細胞の欠損に至り、自己免疫病の原因となる。一方、制御性T細胞の強化により自己免疫病の治療・予防が可能である。本分担研究では、制御性T細胞の分子マーカーの探索・転写因子FoxP3による制御性T細胞の機能制御メカニズムの解明による新たな制御性T細胞の制御法の開発と、それによる自己免疫反応の制御を目的とする。

### B. 研究方法

(1) 制御性T細胞の分子マーカーの検索：マウス、ヒトのCD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性T細胞を免疫原として、制御性T細胞特異的マーカーを認識する単クローン抗体、および制御性T細胞の機能を操作できるアゴニスティックあるいはブロッキング抗体を作製する。試験管内での制御性T細胞機能の解析、および得られた単クローン抗体をマウスに投与し、免疫応答におよぼす効果を検定する

(2) 転写因子FoxP3の分子メカニズムの解明：FoxP3の結合因子を同定し、その免疫学的な意義を解析することにより、Foxp3が制御性T細胞の機能を制御するメカニズムを解析し、制御性

T細胞のあらたな機能評価の指標および制御法開発の基礎研究を行う。

(倫理面への配慮)

実験動物を用いた実験は、動物愛護の精神に基づき、法的・倫理的に配慮された形で、学内の倫理規定にのっとり行われた。

### C. 研究結果

制御性T細胞特異的な単クローン抗体(TH6)を作製した。TH6は活性化制御性T細胞とほかの活性化T細胞を区別できる。TH6の認識する分子は4型葉酸受容体であった。TH6抗体投与により、FR4発現細胞を正常BALB/cマウスから除去すると、自己免疫性胃炎などの臓器特異的自己免疫病を発症した。またNODマウスに投与すると、糖尿病の発症が加速する。さらに、CD25とFR4の発現度を組み合わせることにより、制御性T細胞、メモリーT細胞、エフェクターT細胞を区別できることが分かった。

FoxP3タンパクの結合因子として転写因子AML1/Runx1を同定した。今回新たに、AML1が通常のT細胞でIL-2プロモーターに結合してIL-2転写を活性化している一方で、制御性T細胞においてFoxp3はAML1と結合することを介してIL-2転写を抑制し、周囲のT細胞の増殖・活性化を抑制することを示した。さらに、FoxP3は転写因子AML1と結合することを介して制御性T細胞の機

能を制御することを示した。実際に、AML1 制御性 T 細胞においてノックダウンすると、制御性 T 細胞の抑制活性は消失した。

#### D. 考察

(1) 活性化T細胞と制御性T細胞を弁別できる抗体を作製した。この抗体の認識する分子をマーカーとして、進行中の生理的・病的免疫応答を操作できる。この分子マーカーは、自己免疫病における制御性T細胞の役割を解析するのに有用である。また、この分子を発現するT細胞を選択的に採取、増殖させれば、自己免疫病の治療に適用できる。

(2) Foxp3 と AML1 の相互作用に基づく T 細胞機能制御の解明は、自己免疫疾患の病態解明および新しい免疫制御方法の開発の基礎となると考えられる。すなわち、AML1 の活性化を制御することが、制御性 T 細胞の機能制御につながる可能性がある。また、AML1 による転写制御異常が、ヒトにおいて SLE, RA, 乾癬などの自己免疫・炎症性疾患の原因となりうるということが、遺伝学の研究で明らかになっている。これらの疾患における AML1 の T 細胞での役割、特に制御性 T 細胞における役割の解明は、病態解明のみならず、AML1 を介した新しい治療法につながると考えられる。

#### E. 結論

自己免疫病治療へのひとつのアプローチとして、いかに自己抗原特異的制御性 T 細胞を増殖・機能活性化をはかり、いかに非制御性 T 細胞としてのエフェクター T 細胞を除去できるかが重要である。この目的に FR4 はマーカーとして重要である。また、制御性 T 細胞による抑制機能の発揮と自己免疫反応の回避のために、AML1 の機能が必須であることが明らかになった。AML1 複合体による転写制御メカニズムの解明は、制御性 T 細胞の分化・抑制機能の解明につながる事が判明した。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M, Maeda S, Teradaira S, Sugimoto N, Yamaguchi T, Nomura T, Ito H, Nakamura T, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Preferential recruitment of arthritogenic Th17 cells to

inflamed joints via CCR6/CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model. *J. Exp. Med.* 204:2803-2812, 2007

Sakaguchi S, Wing K, Miyara M. Regulatory T cells in brief history and perspective. *Eur. J. Immunol.* 37:s116-123, 2007

Sakaguchi S, Powrie F. Emerging challenges in regulatory T cell function and biology. *Science.* 317:627-629, 2007.

Ko, H. J., Kim, Y. J., Kim, Y. S., Chang, W. S., Ko, S. Y., Chang, S. Y., Sakaguchi, S., Kang, C. Y. A combination of chemoimmunotherapies can efficiently break self-tolerance and induce antitumor immunity in a tolerogenic murine tumor model. *Cancer Res.* 67:7477-7486, 2007.

Yamaguchi T, Hirota K, Nagahama K, Ohkawa K, Takahashi T, Nomura T, Sakaguchi S. Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor. *Immunity.* 27:145-159, 2007.

Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, Miyachi Y, Tsukada T, Sakaguchi S. Foxp3 controls regulatory T cell function via interacting with AML1/Runx1. *Nature.* 446:685-689, 2007.

Nomura T, Sakaguchi S. Foxp3 and Aire in thymus-generated T(reg) cells: a link in self-tolerance. *Nat Immunol.* 8:333-334, 2007.

Miyara M, Sakaguchi S. Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med.* 13:108-116, 2007.

Hirota K, Hashimoto M, Yoshitomi H, Tanaka S, Nomura T, Yamaguchi T, Iwakura Y, Sakaguchi N, Sakaguchi S. T cell self-reactivity forms a cytokine milieu for spontaneous development of IL-17<sup>+</sup> Th cells that cause autoimmune arthritis. *J Exp Med.* 204:41-47, 2007.

Koshiba T, Li Y, Takemura M, Wu Y, Sakaguchi S, Minato N, Wood KJ, Haga H, Ueda M, Uemoto S. Clinical, immunological, and pathological aspects of operational tolerance after pediatric living-donor liver transplantation. *Transpl Immunol.* 17:94-97, 2007.

Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S.



- ICER/CREM-mediated transcriptional attenuation of IL-2 and its role in suppression by regulatory T cells. *Eur J Immunol.* 37:884-895, 2007.
- Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S. Regulatory T cell-mediated suppression: potential role of ICER. *J Leukoc Biol.* 81:161-167, 2007.
- Lee SK, Choi BK, Kim YH, Kang WJ, Kim KH, Sakaguchi S, Suh JH, Kim TY, Kwon BS. Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor family-related receptor signalling exacerbates hapten-induced colitis by CD4<sup>+</sup> T cells. *Immunology.* 119(4):479-87, 2006.
- Yamaguchi T, Sakaguchi S. Skin controls immune regulators. *Nat Med.* 12:1358-1359, 2006.
- Katakai T, Nomura T, Gonda H, Sugai M, Agata Y, Nishio A, Masuda T, Sakaguchi S, Shimizu A. Spontaneous Large-Scale Lymphoid Neogenesis and Balanced Autoimmunity versus Tolerance in the Stomach of H+/K+-ATPase-Reactive TCR Transgenic Mouse. *J Immunol.* 177:7858-67, 2006.
- Cobb BS, Hertweck A, Smith J, O'connor E, Graf D, Cook T, Smale ST, Sakaguchi S, Livesey FJ, Fisher AG, Merckenschlager M. A role for Dicer in immune regulation. *J Exp Med.* 203:2519-2527, 2006.
- Matsubara Y, Hori T, Morita R, Sakaguchi S, Uchiyama T.: Delineation of immunoregulatory properties of adult T-cell leukemia cells. *Int. J. Hematol.* 84:63-69, 2006.
- Kobayashi K, Suda T, Nan-Ya K, Sakaguchi N, Sakaguchi S, Miki I. Cytokine production profile of splenocytes derived from zymosan A-treated SKG mice developing arthritis. *Inflamm Res.* 55:335-341, 2006.
- Wing, K. and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in allergy. *Curr. Opin. Allergy and Immunol.* 6:482-8, 2006.
- Sakaguchi, S.: Introduction: Regulatory T cells. *Springer Semin. Immunopathol.* 28:1-2, 2006.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.: Peacekeepers of the immune system. *Sci Am.* 295:56-63, 2006.
- Wing, K., Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Emerging possibilities in the development and function of regulatory T cells. *Int. Immunol.* 18:991-1000, 2006.
- Sugimoto, N., Oida, T., Hirota, K., Nakamura, K., Nomura, T., Uchiyama, T., and Sakaguchi, S.: Foxp3-dependent and -independent molecules specific for CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis. *Int. Immunol.* 18:1197-1209, 2006.
- Nishioka, T., Shimizu, J, Iida, R., Yamazaki, S., and Sakaguchi, S.: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T cells and CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>Foxp3<sup>+</sup> T cells in aged mice. *J. Immunol.* 176:6586-6593, 2006.
- Ramirez-Montagut T, Chow A, Hirschhorn-Cymerman D, Terwey TH, Kochman AA, Lu S, Miles RC, Sakaguchi S, Houghton AN, van den Brink MR. Glucocorticoid-Induced TNF Receptor Family Related Gene Activation Overcomes Tolerance/Ignorance to Melanoma Differentiation Antigens and Enhances Antitumor Immunity. *J Immunol.* 176:6434-6442, 2006.
- Sakaguchi, S.: Regulatory T cells: meden agan. *Immunol. Rev.* 212:5-7, 2006.
- Sakaguchi, S., Ono, M., Setoguchi, R., Hori, S., Fehervari, Z., Shimizu, J., Takahashi, T., and Nomura, T.: Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol. Rev.* 212:8-27, 2006.
- Cohen AD, Diab A, Perales MA, Wolchok JD, Rizzuto G, Merghoub T, Huggins D, Liu C, Turk MJ, Restifo NP, Sakaguchi S, Houghton AN. Agonist anti-GITR antibody enhances vaccine-induced CD8(+) T-cell responses and tumor immunity. *Cancer Res.* 66:4904-4912, 2006.
- Kim, J., Choi, W. S, Kim, H. J., Suh, J-H., Sakaguchi, S., and Kwon B.: Conversion of alloantigen-specific CD8<sup>+</sup> T-cell priming through in vitro ligation of glucocorticoid-induced TNF receptor. *J. Immunol.* 176:5223-5231, 2006.
- Ono, M., Shimizu, J., Miyachi, Y., and Sakaguchi, S.: Induction of fatal autoimmune myocarditis and other autoimmune diseases in mice by depleting Foxp3-expressing naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *J. Immunol.* 176:4748-4756, 2006.
- Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S.: The dichotomous roles of IL-2: tolerance versus immunity. *Trends Immunol.* 27:109-111, 2006.

- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Yoshitomi, H., Hata, H., Takahashi, T., and Nomura, T.: Spontaneous development of autoimmune arthritis due to genetic anomaly of T cell signal transduction: Part 1. *Semin. Immunol.* 18:199-206, 2006.
- Yamaguchi, T. and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in immune surveillance and treatment of cancer. *Semin. Cancer Biol.* 16:115-123, 2006.
- Sakaguchi, S., Takahashi, T., Hata, H., Yoshitomi, H., Tanaka, S., Hirota, K., Nomura, T., and Sakaguchi, N. SKG mice, a monogenic model of autoimmune arthritis due to altered signal transduction in T cells. *In The hereditary Basis of Rheumatic Diseases, Progress in Inflammation Research.* Edited by Rikard Holmdahl, Birkhaeuser Verlag, Basel, p147-159, 2006.
- Nagahama, K., and Sakaguchi, S.: Preparation of regulatory T cells in vitro. *In Immunological Tolerance: Methods and Protocols*, edit. P. J. Fairchild, Humana Press, In press.
- Sakaguchi, S., Setoguchi, R., Yagi, H., and Nomura, T.: Naturally arising Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 305:51-66, 2006.
- Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.: T lymphocytes: Regulatory. *Nature Encyclopedia of Life Sciences.* Wiley Interscience, 2006. Available at www.els.net.
- Bach, J. F., Sakaguchi, S. Autoimmunity. *Curr Opin Immunol.* 17: 567-569, 2005.
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N.: Animal models of arthritis caused by systemic alteration of the immune system. *Curr Opin Immunol.* 17: 589-594, 2005.
- Yoshizawa, A., Ito, A., Li, Y., Koshiba, T., Sakaguchi, S., Wood, K. J., and Tanaka, K. The roles of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in operational tolerance after living donor liver transplantation. *Transplant. Proc.* 37:37-39, 2005.
- Ko, K., Yamazaki, S., Nakamura, K., Nishioka, T., Hirota, K., Yamaguchi, T., Shimizu, J., Nomura, T., Chiba, T., and Sakaguchi, S. Treatment of advanced tumors with agonistic anti-GITR mAb and its effects on tumor-infiltrating Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 202: 885-891, 2005.
- Nishikawa, H., Kato, T., Tawara, I., Saito, K., Ikeda, H., Kuribayashi, K., Allen, P. M., Schreiber, R. D., Sakaguchi, S., Old, L. J., Shiku, H. Definition of target antigens for naturally occurring CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 201: 681-686, 2005.
- Chai, J-G., Xue, S., Coe, D., Addey, C., Bartok, I., Scott, D., Simpson, E., Stauss, H. J., Hori, S., Sakaguchi, S., and Dyson, J. P. Regulatory T cells, derived from naive CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T cells by in vitro Foxp3 gene transfer, can induce transplantation tolerance. *Transplantation.* 79:1310-1316, 2005.
- Quezada SA, Bennett K, Blazar BR, Rudensky AY, Sakaguchi S, Noelle RJ: Analysis of the underlying cellular mechanisms of anti-CD154-induced graft tolerance: the interplay of clonal anergy and immune regulation. *J. Immunol.* 175:771-779, 2005.
- Sakaguchi, S., and Sakaguchi, N.: History of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *In Regulatory T cells in inflammation, Progress in Inflammation Research.* Eds. L. S. Taams, A. N. Akbar, and M. H. M. Wauben, Birkhaeuser Verlag, Basel, p3-17, 2005.
- Nomura, T., and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells in tumor immunity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 293:287-302, 2005.
- Sakaguchi, S.: Preface: Regulatory T cells in autoimmune diseases. *Int. Rev. Immunol.* 24: 157-158, 2005.
- Sakaguchi, S. and Sakaguchi, N.: Regulatory T cells in immunologic self-tolerance and autoimmune diseases. *Int. Rev. Immunol.* 24:211-226, 2005.
- Fehervari Z, Sakaguchi S.: CD4<sup>+</sup> regulatory cells as a potential immunotherapy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 360:1647-1661, 2005.
- Sakaguchi, S.: Naturally arising Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat. Immunol.* 6: 345-352, 2005.
- Kuroda N, Mitani T, Takeda N, Ishimaru N, Arakaki R, Hayashi Y, Bando Y, Izumi K, Takahashi T, Nomura T, Sakaguchi S, Ueno T, Takahama Y, Uchida D, Sun S, Kajiura F, Mouri Y, Han H, Matsushima A, Yamada G, Matsumoto M. Development of Autoimmunity against

Transcriptionally Unrepressed Target Antigen in the Thymus of Aire-Deficient Mice. *J. Immunol.* 174:1862-1870, 2005.

Matsubara, Y., Hori, T., Morita, R., Sakaguchi, S., and Uchiyama, T.: Phenotypic and functional relationship between adult T cell leukemia and regulatory T cells. *Leukemia* 19:482-483, 2005.

Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T., and Sakaguchi, S.: Homeostatic maintenance of natural Foxp3<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization *J. Exp. Med.* 201:723-735, 2005.

Yoshitomi, H., Sakaguchi, N., Brown, G., Tagami, T., Sakihama, T., Nomura, T., Akira, S., Gordon, S., Nakamura, T., and Sakaguchi, S. Environmental stimulation of innate immunity triggers chronic arthritis in mice genetically prone to produce arthritogenic autoimmune T cells: a key role of fungal  $\beta$ -glucans and their receptor Dectin-1. *J. Exp. Med.* 201: 949-960, 2005.

Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.: Regulatory T cells. In *Measuring Immunity*, eds. M. T. Lotze and A. W. Thompson, Elsevier. p322-335, 2005.

Gondek, D. C., Lu, L-F., Quezada, S. A., Sakaguchi, S., and Noelle, R. J. Cutting Edge: Contact-mediated suppression by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J. Immunol.* 174: 1783-1786, 2005.

## 2. 学会発表

Masahiro Ono, Hiroko Yaguchi, Naganari Ohkura, Issay Kitabayashi, Takashi Nomura, Toshihiko Tsukada, Shimon Sakaguchi: A mechanism of IL-2 repression by Foxp3 and a Foxp3-interacting protein. JSI-RCAI Workshop 2007 (2007.3.7.横浜)

小野昌弘、矢口浩子、大倉長也、北林一生、塚田俊彦、宮地良樹、坂口志文：転写因子 Foxp3 とその結合因子による制御性 T 細胞の機能制御メカニズムの解明 日本研究皮膚科学会第 32 回 年次学術大会・総会 (2007.4.18-20.横浜)

小野昌弘、坂口志文：Foxp3 は AML1/Runx1 と結合して制御性 T 細胞の機能を制御する 第 17 回 Kyoto T Cell Conference (2007,6,15-16.京都)

山口智之：TGF- $\beta$ , IL-2, TCR 刺激強度依存症にす

べて naïve CD4<sup>+</sup>T 細胞から Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が誘導される 第 17 回 Kyoto T Cell Conference (2007,6,15-16.京都)

山口智之、坂口志文：Foxp3<sup>+</sup>regulatory T cells can be induced from any naïve CD4<sup>+</sup> T cells depending on the dose of TGF- $\beta$  and IL-2 and the intensity of TCR stimulation Kyoto University 21<sup>st</sup> Century COE Symposium Integration of Transplantation Therapy and Regenerative Medicine (2007,6,29-30.京都)

Kajsa Wing, Takashi Nomura, Shimon Sakaguchi : The regulatory T cell-specific role of CTLA-4 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

山口智之、坂口志文：ナイーブ CD4<sup>+</sup>T 細胞から Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞が誘導される条件について 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

島友子、野村尚史、齊藤滋、坂口志文：アロ抗原により誘導される制御性 T 細胞の動態解析 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

前田伸治、田中聡、廣田圭司、寺平晋、橋本求、野村尚史、上田龍三、坂口教子、坂口志文：TCR シグナル伝達の補正による SKG マウス自己免疫性関節炎の発症抑制 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

寺平晋、廣田圭司、橋本求、前田伸治、山口智之、野村尚史、坂口教子、坂口志文：SKG マウスにおける自己反応性 CD4<sup>+</sup>T 細胞集団の解析 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

鬼頭昭彦、小野昌弘、矢口浩子、大倉永成、北林一生、塚田俊彦、野村尚史、宮地良樹、谷内一郎、坂口志文：Foxp3+CD4+制御性 T 細胞の分化における AML1/Runx1 および CBF $\beta$  の役割の解析 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

Junko Hori, Mingcong Wang, Hiroko Taniguchi, Yuki Kitahara, Shimon Sakaguchi, Miyuki Azuma: GITR-ligand-induced regulatory T cells as a mechanism of immune privilege of corneal allografts

第 37 回日本免疫学会総会・学術集会  
(2007.11.20-22 品川)

Shimon Sakaguchi : Targeting regulatory T cells  
Academy Colloquium-Translating Immunological  
tolerance into novel therapies for (pediatric)  
autoimmune disease(2007 1. 18-19. Amsterdam,  
Netherlands)

Shimon Sakaguchi : Natural regulation of the  
immune response The Netherlands Academy for  
Natural Sciences (2007 1. 20. Amsterdam,  
Netherlands)

Shimon Sakaguchi: KEYNOTE ADDRESS The  
Rebirth of Suppressor/Regulatory T Cells  
KEYSTONE SYMPOSIA  
(2007 .1-6.Vancouver,Canada)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells in  
Immunological Self-Tolerance Bob Smith Lecture  
Seminar Series,University of Texas (2007 2.7-8.  
Houston,USA)

Shimon Sakaguchi: T –Cells in Immunologic  
Tolerance to Self and Organ Transplants  
BMT Tandem Meetings (2007.2.8-12.Denver,USA)  
Masahiro Ono : Control of regulatory T cell function  
be the interaction of Foxp3 and AML1/Runx1. BSI  
Congress 2007 (2007.2.20-23.Glasgow, Scotland)

坂口志文:制御性 T 細胞による免疫応答制御 第  
48 回京都肝疾患懇話会 (2007.2.24. 京都)

坂口志文 : 自己免疫病と制御性 T 細胞 千里ラ  
イフサイエンスセミナー 免疫・感染症シリーズ  
第一回「自己免疫疾患とその制御」(2007.2.27.  
大阪)

坂口志文 : 制御性 T 細胞の自己免疫、腫瘍免疫  
における共通基盤について 43th 免疫懇話会  
(2007.3.6 山口)

坂口志文 : 制御性 T 細胞の基礎と癌免疫 第 7  
回バイオモジュレーション研究会 (2007.3.10.  
東京)

野村尚史 : CD25+CD4+制御性 T 細胞による免疫応  
答制御 第 6 回 日本再生医療学会総会(2007.  
3. 13. 横浜)

Shimon Sakaguchi : Induction of tumor immunity by  
depleting naturally CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells  
or attenuating their suppressive activity The  
Charles Rodolphe Brupbacher Foundation Eight  
Scientific Symposium in conjunction with the  
Charles Rodolphe Brupbacher Cancer Research  
Award 2007 (2007.3.14-16.Zurich,Switzerland)

坂口志文:制御性 T 細胞による免疫応答制御 第  
27 回日本医学会総会(2007.4.6-8 大阪)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T Cells in  
Immunologic self-tolerance, autoimmune disease and  
tumor immunity World Immune Regulation Meeting  
(2007.4.11-15. Davos, Switzerland)

廣田圭司、坂口教子、坂口志文 : S K G マウス  
の関節炎惹起性 IL-17 産生 T 細胞の分化における  
IL-6 の役割 第 51 回日本リウマチ学会総会  
(2007.4.26-29.横浜)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答制御  
第 43 回日本肝臓学会総会 (2007.5.31-6.1)

Keiji Hirota : Contribution of IL-6 to spontaneous  
differentiation into IL-17-producing arthritogenic T  
cells in SKG mice EULAR Congress 2007  
(2007.6.13-16. Barcelona Spain)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による自己/非自己の識  
別と免疫応答制御 神戸バイオメディカル学術  
交流会第 7 回定期交流会 (2007,6,27.神戸)

坂口志文 : Control of immune responses by natural  
regulatory T cells Kyoto University 21<sup>st</sup> Century  
COE Symposium Integration of Transplantation  
Therapy and Regenerative Medicine (2007,6,29-30.  
京都)

坂口志文 : 自己免疫性関節炎を惹起する IL-17 産  
生 T 細胞の分化機構第 72 回インターフェロン・  
サイトカイン学会学術集会(2007,7,5-6.京都)

坂口志文 : Regulatory T Cells for the control of  
immune responses 13<sup>th</sup> International Congress of  
Mucosal Immunology (2007,7,9-12. 東京)

Shimon Sakaguchi: Rheumatoid arthritis as a  
systemic autoimmune disease : insights from an  
animal model Imperial College London Kennedy  
Institute of Rheumatology Seminar (2007,7,16  
London.UK)