

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells in autoimmune disease Mathilda and Terence Kennedy Lecture, Imperial College London (2007,7,18 London.UK)

Shimon Sakaguchi : Plenary Session-Hot Topics in immunology : Regulatory T cells for the control of Immune Response 13<sup>th</sup> International Congress of Immunology (2007.8.21-25 Rio de Janeiro. Brazil)  
Shimon Sakaguchi : Honorary Lecture Regulatory T cells The Baltic Summer School (2007.9.2-13 Lund. Sweden)

Shimon Sakaguchi : Creating animal models for rheumatoid arthritis (2007.9.2-13 Lund, Sweden)  
Shimon Sakaguchi : Genetic basis of autoimmune disease due to regulatory T cell anomaly FROM THE LABORATORY TO THE CLINIC:FROM IMMUNE RESPONSE GENE TO AUTOIMMUNITY (2007.9.8-11. Oxford UK)

坂口志文 : 制御性T細胞による免疫応答制御 第35回日本臨床免疫学会総会 (2007.10.19-20 大阪)

坂口志文 : 制御性T細胞による免疫応答制御 第22回九州免疫血液研究会学術集会 (2007.10.20 博多)

Shimon Sakaguchi : The Molecular Basis of the Control of Regulatory T Cell Function : The New Century Health Care Promotion Foundation 11<sup>th</sup> International Congress (2007.10.26-27 Taipai Taiwan)

Shimon Sakaguchi : Control of Immune Responses by Regulatory T Cells : The New Century Health Care Promotion Foundation 11<sup>th</sup> International Congress (2007.10.26-27 Taipai Taiwan)

Shimon Sakaguchi : Thymus, Treg, Th17, and autoimmunity : insights from an animal model of autoimmune arthritis Immune regulation in clinical disease (2007. 11. 6-7 Pohang Korea)

Shimon Sakaguchi : Thymus, Treg, Th17, and autoimmunity : insights from an animal model of autoimmune arthritis The 55<sup>th</sup> Fall Conference of The Korean Association of Immunobiologists (2007. 11. 8-9 Seoul Korea)

Kajsa Wing : Contribution of Treg-associated molecules, in particular CTLA-4, to Treg-mediated

immune suppression in vivo and in vitro 第37回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)  
坂口志文:制御性T細胞・最近の話題 テクニカルセミナー 第37回日本免疫学会総会・学術集会 (2007.11.20-22 品川)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫制御 東北大学大学院講義 (2007.11.29. 仙台)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫恒常性の維持 第1回年齢軸生体恒常性研究会シンポジウム (2007.11.30. 東京)

坂口志文:制御性T細胞による免疫応答制御 免疫難病・感染症等の先進医療技術 第4回公開シンポジウム (2007.12.14. 品川)

Masahiro Ono : Control of regulatory T cell function by Foxp3 and AML1/Runx1 BMB 2007(2007.12.11-15. 横浜)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis Annual Symposium in Immunology Dr. Michael Sela Lecture, Weizmann Institute of Science (2007,12,16 Tel Aviv Israel)

Shimon Sakaguchi : Thymus, Treg, Th17, and Autoimmunity : Insights from an Animal Model of Autoimmune Disease Department Seminar Weizmann Institute of Science (2007,12,17 Acre Israel)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis The 23rd Annual Richard K. Gershon Memorial Lecture Yale University (2007,12,20 New Haven USA)

畑 洋、中村孝志、塩沢俊一、三森経世、坂口教子、坂口志文 : 関節リウマチ(RA)患者における TCR シグナル遺伝子(ZAP-70 and CD3z chain)の遺伝子解析について 第50回日本リウマチ学会総会・学術集会 (2006. 4. 23-26 長崎)

森元千晶、前田朋子、吉富啓之、藤井克樹、正木秀幸、坂田恒昭、鈴木隆二、坂口教子、坂口志文 : SKG マウス関節炎由来 T 細胞クローン移入による関節炎・間質性肺炎の誘導 第50回日本リウマチ学会総会・学術集会 (2006. 4. 23-26 長崎)

廣田圭司、岩倉洋一郎、坂口志文:SKG マウス自己免疫性関節炎における IL-17 の役割 第 16 回 Kyoto T Cell Conference (2006. 6. 2-3.)

杉本直志、種田貴徳、廣田圭司、中村恭子、野村尚史、内山卓、坂口志文:DNA マイクロアレー解析による Foxr3 依存性および非依存性の CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性 T 細胞特異的分子の同定 第 16 回 Kyoto T Cell Conference (2006. 6. 2-3.)

Kanji Nagahama : Transplantation Tolerance by Antigen-Specific Regulatory T Cells Expressing the Folate Receptor. World Transplant Congress(2006.7.22-27.Boston, USA )

Kanji Nagahama, Tomoyuki Yamaguchi, Keiji Hirota, Takashi Nomura, Shimon Sakaguchi. : Transplantation Tolerance by Antigen-Specific Regulatory T Cells Expressing the Folate Receptor. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Tomoya Katakai, Takashi Nomura, Hiroyuki Gonda, Manabu Sugai, Shimon Sakaguchi, Akira Shimizu. : Spontaneous lymphoid neogenesis and balanced autoimmunity versus tolerance in the stomach of H+/K+-ATPase-reactive TCR transgenic mouse. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Naoshi Sugimoto, Takatoku Oida, Keiji Hirota, Kyoko Nakamura, Takashi Nomura, Takashi Uchiyama, Shimon Sakaguchi. : Foxp3-dependent and -independent molecules specific for CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

山口 智之、坂口 志文.: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>制御性 T 細胞の誘導. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Kajsa Wing, Haruhiko Yagi, Takashi Nomura, Shimon Sakaguchi. : The influence of GITR signaling on human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cell mediated suppression. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Hanna Igarashi, PIAO Jinhua, Yosuke Kamimura, Hideyuki IWAI, Masaaki Hashiguchi, Teruo Amagasa, Shimon Sakaguchi, Miyuki Azuma. : GITRL-mediated costimulatory function in CD25<sup>-</sup> conventional and CD25<sup>+</sup> regulatory CD4 T cells. 第

36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)  
Yosuke Kamimura, Hanna Igarashi, PIAO Jinhua, Hideyuki IWAI, Masaaki Hashiguchi, Shimon Sakaguchi, Miyuki Azuma. : Involvement of GITRL-mediated costimulatory function in contact hypersensitivity. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Masahiro Ono, Hiroko Yaguchi, Naganari Ohkura, Issay Kitabayashi, Takashi Nomura, Yoshiki Miyachi, Toshihiko Tsukada, Shimon Sakaguchi. : A mechanism of IL-2 repression by Foxp3 and a Foxp3-interacting protein. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Hiroko Yaguchi, Masahiro Ono, Naganari Ohkura, Shimon Sakaguchi, Toshihiko Tsukada. : Identification of an RNA binding protein involved in alternative splicing of CD45 pre-mRNA. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Keiji Hirota, Motomu Hashimoto, Hiroyuki Yoshitomi, Satoshi Tanaka, Takashi Nomura, Yoichiro Iwakura, Noriko Sakaguchi, Shimon Sakaguchi. : Contribution of IL-6 to spontaneous differentiation into IL-17-producing arthritogenic T cells in SKG mice. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

海江田 信二郎、水野 美歩、大木 伸司、坂口 志文、坂口 教子、山村 隆、三宅 幸子 : SKG マウスにおける結核死菌投与による関節炎の誘導. 第 36 回日本免疫学会総会 (2006. 12.11-13 大阪)

Shimon Sakaguchi: Natural Tregs and Autoimmune Diseases Keystone Symposia Tolerancr, Autoimmunity and Immune Regulation (2006 3.21-25. Colorado, USA)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells in autoimmunity and tumor immunity Washington University immunology seminar (2006 3. 27. St. Louis, USA)

Shimon Sakaguchi : Control of Immune Responses by Naturally Occurring Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells The 15<sup>th</sup> International Rheumatology Symposium (2006 4. 23-26. Nagasaki, Japan)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫疾患の制御  
第 50 回 日本リウマチ学会総会・学術集会  
(2006. 4. 23-26 長崎)

坂口教子：SKG/Jcl マウス 第 53 回日本実験動物学会総会 (2006. 5. 11 神戸)

坂口志文：制御性 T 細胞による移植免疫寛容の誘導 Renal Transplantation Forum 2006 (2006. 5. 13 東京)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答の制御  
第 27 回 癌免疫外科研究会 (2006. 6. 1 小倉)  
Shimon Sakaguchi: FoxP3 Regulatory T Cells, the American Diabetes Association 66<sup>th</sup> Scientific Session (2006 6.9 -13. Washington D.C., USA)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫疾患の制御  
第 5 回四国免疫フォーラム (2006. 6. 24 徳島)  
坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御 医薬基盤研究所セミナー (2006. 6. 27 大阪)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御 第 71 回日本インターフェロン、サイトカイン学会 (2006. 7. 7-8 兵庫)

坂口教子：SKG マウス：ZAP-70 遺伝子変異による関節リウマチモデルマウス 第 24 回日本骨代謝学会 (2006. 7. 6-8 東京)

坂口志文：自己免疫性関節炎モデルにおける自己反応性 T 細胞のサイトカイン依存性について  
第 2 回自己免疫疾患研究会 (2006. 7. 8 東京)

坂口志文：制御性 T 細胞による癌免疫制御 第 10 回基盤的癌免疫研究会総会 (2006. 7. 13-14 札幌)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫制御・日本免疫学会 免疫サマースクール 2006 (2006. 8.6-9. 千葉)

Shimon Sakaguchi: Keynote lecture Regulatory T cells : Key controllers of immune responses Fondation Merieux International Symposium Control of anti-tumoral and anti-infectious immune responses by regulatory T cell subsets: Potential clinical applications (2006 9.25 -27. Annecy, France)

山口智之：制御性 T 細胞による免疫疾患の制御

第 34 回日本臨床免疫学会総会(2006. 10. 2-3 東京)

Shimon Sakaguchi : Foxp3-expressing regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease The 8<sup>th</sup> International Congress of Neuroimmunology (2006 10. 15-19. Nagoya, Japan)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells in self-tolerance and autoimmunity 1<sup>st</sup> Mediterranean Workshop Clinical Immunology (2006 10.26 -29. Evora, Portugal)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫疾患の制御  
第 56 回日本アレルギー学会(2006. 11. 2-4 東京)

Shimon Sakaguchi : Control of Immune Responses by Naturally Occurring Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells Joint International Symposium of POSTECH-Rheumatism Research Center : T Cell Memory and Tolerance (2006 11. 8-9. Pohang, Korea)

Shimon Sakaguchi : Control of Immune Responses by Naturally Occurring Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells The 53<sup>rd</sup> Annual Autumn Conference of Korean Association of Immunologist (2006 11. 10. Seoul, Korea)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immunologic tolerance and negative control of immune responses NIAID REGULATORY T CELL WORKSHOP (2006 11.20 -21. Bethesda, MD USA)

Shimon Sakaguchi: Naturally arising regulatory T cells in immunologic self-tolerance and autoimmune disease Harvard Medical School Wednesday Immunology Seminar (2006 12.6. Boston, MA USA)

Shimon Sakaguchi: T Cell Self-Reactivity and Cytokines in Spontaneous Autoimmune Arthritis The Eighth Annual Harvard Autoimmunity Symposium (2006 12.8. Boston, MA USA)

Shimon Sakaguchi: Control of physiological and pathological immune responses with regulatory T cells 第 36 回日本免疫学会総会(2006. 12.11-13 大阪)

坂口志文：制御性 T 細胞の最近の知見 第 36 回日本免疫学会総会(2006. 12.11-13 大阪)

Keiji Hirota, Hiroyuki Yoshitomi, Satoshi Tanaka, Takashi Nomura, Noriko Sakaguchi and Shimon Sakaguchi : Generation of autoaggressive CD4+ T cells due to a ZAP-70 point mutation in SKG mice that spontaneously develop autoimmune arthritis Keystone Symposia Cellular Senescence and Cell Death (2005 3.3-8. Colorado, USA)

Ruka Setoguchi, Shohei Hori, Takeshi Takahashi and Shimon Sakaguchi: IL-2 and autoimmunity : homeostatic maintenance of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells via IL-2 secreted by other T cells and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. Keystone Symposia Cellular Senescence and Cell Death (2005 3.3-8. Colorado, USA)

Tomoyuki Yamaguchi, Takeshi Takahashi and Shimon Sakaguchi : Separation of natural CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells from activated T cells by a novel specific monoclonal antibody : Application to tumor immunology. Keystone Symposia Basic Aspect of Tumor Immunology (2005 3.19-23. Colorado, USA)

山口智之、坂口志文 : 葉酸受容体を標的とする CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性 T 細胞の分子的制御 第 35 回日本免疫学会総会(2005. 12. 13-15 横浜)

田中聡、橋本求、廣田圭司、吉富啓之、野村尚史、坂口教子、坂口志文: CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性 T 細胞による SKG マウス関節炎の治療 第 35 回日本免疫学会総会(2005. 12. 13-15 横浜)

廣田圭司、吉富啓之、橋本求、田中聡、野村尚史、坂口教子、坂口志文: 自己免疫性関節炎を自然発症する SKG マウスにおける CD4<sup>+</sup>T 細胞の自己反応性 第 35 回日本免疫学会総会(2005. 12. 13-15 横浜)

橋本求、吉富啓之、田中聡、廣田圭司、野村尚史、坂口教子、三森経世、坂口志文 : 関節炎を自然発症する SKG マウスにおける抗シトルリン化蛋白抗体産生の検討第 35 回日本免疫学会総会(2005. 12. 13-15 横浜)

久保香織、西岡朋尚、増永太郎、田村康一、坂

口志文 : GATR-GITRL 経路遮断による制御性 T 細胞の移植片生着延長効果維持増強 第 35 回日本免疫学会総会(2005. 12. 13-15 横浜)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答の制御 第 1 回免疫コロキウム (2005. 2. 21-22 兵庫)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答の制御 第 17 回日本神経免疫学会学術集会 (2005. 3. 3-4 福岡)

Shimon Sakaguchi: Induction of Tumor Immunity by Depleting Naturally Occurring Foxp3-Expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells or Attenuating their Suppressive Activity Keystone Symposia Basic Aspect of Tumor Immunology (2005 3.19-23. Colorado, USA)

Shimon Sakaguchi: Control of immune responses by naturally occurring Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T Cells International Symposium Immune Tolerance and Regulation (2005 4. 7. Kyoto, Japan)

Shimon Sakaguchi: Development of autoimmune arthritis due to a mutation of the ZAP-70 gene: T cell selection shift and altered Treg function The 4<sup>th</sup> International Workshop of Kyoto T cell conference (2005 4. 8-10. Kyoto, Japan)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答の制御 第 104 回日本皮膚科学会総会学術集会 (2005. 4. 22-24 横浜)

Shimon Sakaguchi: Genetic Determinants of Lymphocyte Function in RA FOCiS 2005 ANNUAL MEETING (2005 5. 12-16. Boston , USA)  
Shimon Sakaguchi: Naturally Arising CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells in Immunologic Tolerance FOCiS 2005 ANNUAL MEETING (2005 5. 12-16. Boston , USA)

Shimon Sakaguchi : Control of immune responses by naturally occurring Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T Cells Mechanisms of Immune Responses in Health and Diseases RCAI-JST International Symposium on

Immunology 2005 (2005 6. 17-19. Yokohama, Japan)

坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫制御 : 自己免疫、腫瘍免疫、移植免疫の共通基盤について 第 11 回阪神造血器腫瘍研究会学術集会 (2005. 9. 2 大阪)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T cells in Immunological diseases 6<sup>th</sup> Meeting of the JSI and DGfI (2005 9. 17-20. Potsdam, Germany)  
Shimon Sakaguchi : Regulatory T-cells in Immunological Tolerance to Self and No-self Geneva University (2005 5. 21. Geneva, Switzerland)

Shimon Sakaguchi : REGULATORY T CELLS 8<sup>th</sup> Meeting of the Immunology of Diabetes Society (2005 10. 6-9. 淡路島)

Shimon Sakaguchi: Control of immune responses by naturally occurring Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T Cells International Symposium: Autoimmunity in Intractable Diseases: From Bench to Clinic (2005. 10. 25-27. Hakone, Japan)

Shimon Sakaguchi : Regulatory T-cells 2005 ACR/ARHP Annual Scientific Meeting (2005 11. 13-17. San Diego, USA)

坂口志文 : 抑制性 T 細胞と自己免疫疾患 九州大学臨床免疫セミナー (2005. 12. 6 福岡)  
坂口志文 : 制御性 T 細胞による免疫応答の制御 第 28 回日本分子生物学会 (2005. 12. 7-10 福岡)

Shimon Sakaguchi: Contribution of thymic selection and peripheral regulation to immunologic self-tolerance. 第 35 回日本免疫学会総会 (2005. 12. 13-15 横浜)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### ①国内特許

発明の名称 : 自己免疫性関節炎を自然発症するマウス

発明者 : 坂口 志文

出願人 : 科学技術振興事業団、(財)東京都高齢

者研究・福祉振興財団

出願日 : 1997 年 10 月 7 日

特許番号 : 特許第 3467520 号

### ②国外特許

発明の名称 : Mice causing spontaneous onset of autoimmune arthritis.

発明者 : Shimon Sakaguchi

出願人 : Shimon Sakaguchi

出願日 : 1999 年 4 月 7 日

国名 : USA

特許番号 : No. 6828472.

### ③出願中の発明

出願番号 : 特願 2005-106887

発明の名称 : 「制御性 T 細胞の製造方法」

出願日 : 2005 年 4 月 1 日

出願人 : 国立大学法人京都大学

発明者 : 坂口志文、小柴貴明、伊藤淳、

田中紘一

出願番号 : 特願 2005-134279

発明の名称 : 「4 型葉酸受容体の発現を指標とした制御性 T 細胞の検出方法、及び免疫賦活剤」

出願日 : 2005 年 5 月 2 日

出願人 : 国立大学法人京都大学、独立行政法人理化学研究所

発明者 : 坂口志文、山口智之、廣田圭司

出願番号 : 特願 2005-166547

発明の名称 : 「免疫寛容を人為的に抑制することによる抗体の作製方法」

出願日 : 2005 年 6 月 7 日

出願人 : 国立大学法人京都大学、国立大学法人東京大学、中外製薬株式会社、株式会社ペルセウスプロテオミクス

発明者 : 坂口志文、浜窪隆雄、先浜俊子、

舟橋真一、岩成宏子

出願番号 : 特願 2005-289224

発明の名称 : 「免疫抑制性のマクロライド系抗生剤を用いる制御性 T 細胞の製造方法」

出願日 : 2005 年 9 月 30 日

出願人 : 国立大学法人京都大学

発明者 : 坂口志文、小柴貴明、伊藤淳、田中紘一

出願番号 : 11/240361

発明の名称 : "METHOD FOR DETECTING REGULATORY T CELLS USING EXPRESSION OF FOLATE RECEPTOR 4 AS INDICATOR, METHOD FOR TREATING DISEASE"

出願日 : 2005 年 10 月 3 日 (アメリカへ出願)

出願人：KYOTO UNIVERSITY, RIKEN

発明者：坂口志文、山口智之、廣田圭司

## SLE に対する抗 CD20 抗体療法の開発に関する研究

分担研究者 田中 良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座 教授  
研究協力者 齋藤和義 産業医科大学医学部第一内科学講座 准教授

### 研究要旨

全身性エリテマトーデス（SLE）は、多臓器病変を特徴とする自己免疫疾患であるが、保険収載されている治療はステロイド薬のみである。その発症と維持に於いて、B 細胞は抗原提示を担う stimulator、T 細胞依存性に自己抗体を産生する responder として重要な役割を担ことから、B 細胞と B 細胞表面抗原は治療標的として重要である。申請者らは、既存の治療に抵抗性の重症 SLE 20 症例を対象に、B 細胞リンパ腫を対象に保険収載される B 細胞抗原 CD20 に対する抗体リツキシマブを用いたパイロットスタディを実践した。その結果、リツキシマブにより 4 週後に 19 例の疾患活動性が改善し、20 例中 13 例で 1～17 ヶ月以内に寛解導入を可能とし、5 例は 2 年以上寛解を維持した。殊に、精神神経 SLE を伴う 13 例は全例で回復し、ループス腎炎を伴う 11 例では 7 例で尿蛋白(+/-) 以下まで改善し、高い臨床効果を確認した。また、当該班の構成員を中心に中～重度の flare を有する SLE に対して抗 CD20 抗体リツキシマブ療法を用いた GCP 準拠第 I / II 相臨床試験を実践し[全薬工業（株）主導]、有効性、副作用、HACA 産生などの問題点の検証を行った。一方、リツキシマブの作用機序としては、B 細胞分化を制御してナイーブ B 細胞の再構築を生じ、長期寛解導入と免疫複合体が関与する腎障害などが改善したと考えられる（液性免疫の制御）。一方、中枢神経症状の速やかな改善については、共刺激分子を発現するメモリー B 細胞を優先的に除去して B-T 細胞間相互作用を制御し、血管障害などを改善した（細胞性免疫の制御）可能性等が明らかになった。

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス（SLE）は、多臓器障害を伴う代表的な自己免疫疾患であるが、急性期治療に関しては明確な指標はなく、ステロイド薬と免疫抑制薬の併用による非特異的治療が中心を成す。しかし、免疫抑制薬は保険未収載で、臨床試験を経た薬剤の開発が必至である。SLE は、B 細胞による過剰な自己抗体産生により齎される免疫複合体病であり、CD20 等の B 細胞特異的抗原は治療標的として重要である。CD20 抗体療法は、B 細胞リンパ腫を対象に保険収載されるが、申請者らは、既存の治療に抵抗性の重症 SLE 20 症例を対象に、B 細胞を標的とした CD20 モノクローナル抗体リツキシマブを用いたパイロットスタディを実践し、高い臨床効果を確認した。また、当該班の構成員を中心に GCP 準拠第 I / II 相臨床試験を実践し、有効性、副作用、HACA 産生などの問題点の検証を行った。さらに、リツキシマブの作用機序に関して基礎的検討を行った。

### B. 研究方法

パイロットスタディに関しては、ステロイドや免疫抑制剤などの既存の治療に抵抗性を示した重症 SLE 20 症例（BILAG カテゴリー-A を 1 項目以上満たす）に対し、本学倫理委員会承認後に、インフォームドコンセント取得の上、原則として CD20 抗体リツキシマブ 375mg/m<sup>2</sup>/週を 2 回投与し、臨床症候、検査成績、画像所見などを検討した。また、末梢血リンパ球の表面抗原をフローサイトメトリーで検出した。

また、DNA マイクロアレイを用い、末梢血 mRNA 発現量の推移を投与前、投与後 2 週間目で比較検討した（阪大西本憲弘教授との共同研究）。

一方、リツキシマブ（IDEC-C2B8）の自己免疫疾患への適応拡大を目指すべく、SLE を対象とした臨床第 I / II 相試験（新 GCP 準拠）を実施した（全薬工業主導）。対象は、ACR 規準にて SLE と診断し、ステロイド（PSL 換算  $\geq 0.4$  mg/kg/day）による治療にもかかわらず、中～重度の flare（BILAG カテゴリー-A 症状を 1 つ以上、或いは、

カテゴリーB症状を2つ以上)を有する症例とした。主要評価項目は安全性、副次的評価項目は有効性とした。悪性リンパ腫に用いる用法用量の安全性・忍容性について検討後(5例)、欧米に於けるSLE対象の用法用量の安全性・認容性を検討した(10例)。

#### (倫理面への配慮)

臨床検体を使用する場合には、所属機関の倫理委員会、或は、IRBで承認を得た研究に限定し、患者からインフォームドコンセントを得た上で、倫理委員会の規約を遵守し、所属機関の現有設備を用いて行う。患者の個人情報が入所機関外に漏洩せぬよう、試料や解析データは万全の安全システムをもって厳重に管理し、人権擁護に努めると共に、患者は、経済的負担を始め如何なる不利益や危険性も被らない事を明確にする。

### C. 研究結果

- (1) パイロットスタディを行ったステロイドや免疫抑制剤などの既存の治療に抵抗性を示した重症SLE 20症例の疾患活動性スコアSLEDAIは、リツキシマブ投与28日後に有意に改善した。
- (2) 20例中13例でリツキシマブ投与1~17ヶ月以内に寛解導入(SLEDAI=0)を可能とし、寛解は5例で2年以上維持した。
- (3) 中枢神経SLEを伴う13例は全例回復し、意識障害、神経症、癲癇は一部の症例では1週間以内に回復した。ループス腎炎を伴う11例では、8例で尿蛋白0.5g/day以下まで改善した
- (4) 3例で带状疱疹ヘルペス、肺炎、褥瘡感染症を認め、注射時反応は浮腫や倦怠感等が認められた。
- (5) 5例が7~23ヵ月後に再燃した。2例はリツキシマブ再投与、2例はIV-CYで改善したが1例はリツキシマブ再投与後著明なHACA産生(80 $\mu$ g/ml)を齎し、パルス療法を施行した。
- (6) 臨床第I/II相試験では、リツキシマブ500mg/kg x4群(5例)、1000mg/kg x2群(10例)とも重篤な有害事象はなかった。
- (7) 24週間経過観察期間中の有害事象は、3例に感染症を併発したが、いずれも経口抗生剤の投与により改善した。注射時反応は、浮腫や倦怠感等が認められたが、一過性で

軽微であった。

- (8) 全例において末梢血CD20陽性B細胞数は14日以内に消失し、3~6ヶ月間維持された。
- (9) 抗キメラ抗体(HACA)は、7例中3例で陽性であったが、疾患活動性には影響がなかった。
- (10) 生化学検査に有意な異常を認めず、また、血清自己抗体値は減少傾向、血清補体価は上昇傾向にあったが、血清IgG、IgA、IgM値は不変であった。
- (11) 有効性評価としては、14例中2例がMajor clinical response(MCR; 28週目までに新たなflareを発症することなく、疾患活動性がBILAGカテゴリーC以下まで低下)、7例がPartial clinical response(PCR)を示したが、5例はnon-response(NR)であった。
- (12) 中枢神経系と腎障害に於いて、改善傾向が顕著であった。
- (13) B細胞表面抗原の解析では、CD19陽性細胞上のCD40とCD80は投与後速やかに発現分子数が減少し、半年後も減弱が維持された。CD19<sup>+</sup>IgD<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>ナイーブB細胞は速やかに消失したが、IgD<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>形質細胞は4週間残存した。その後、一部の症例(再燃例、寛解維持例の双方)でこれらの発現が回復した。
- (14) リツキシマブ治療により、CD4陽性細胞上のCD40LとICOSの発現も低下した。
- (15) DNAマイクロアレイによりリツキシマブ投与による末梢血mRNAの発現変動解析では、RANKL、IL-32、シャペロン蛋白質群、LCKなどのシグナル関連蛋白質群などリンパ球や脳に発現する分子などが低下し、B細胞除去による発現頻度はむしろ軽微だった。

### D. 考察

既存の治療に抵抗性の重症SLE 20症例を対象に、B細胞リンパ腫を対象に保険収載されるB細胞抗原CD20に対する抗体リツキシマブを用いたパイロットスタディを実践した。その結果、リツキシマブにより4週後に19例の疾患活動性が改善し、20例中13例で1~17ヶ月以内に寛解導入を可能とし、5例は2年以上寛解を維持した。殊に、精神神経SLEを伴う13例は全例で回復し、ループス腎炎を伴う11例では7例で尿蛋白(+/-)以下ま



で改善し、高い臨床効果を確認した。

さらに、中～重度の flare を有する SLE に対し抗 CD20 抗体リツキシマブ療法を用いた第 I / II 相臨床試験を実施し、安全性と有効性等が明らかになった。末梢血 CD20 陽性 B 細胞数は全例に於いて、14 日以内に消失し、3～6 ヶ月間維持され、血清自己抗体値は減少傾向、血清補体価は上昇傾向にあったが、血清 IgG, IgA, IgM 値は不変であった。また、HACA は、7 例中 3 例で陽性（リツキシマブの検出限界以下で）であったが、疾患活動性には影響がなかった。一方、有効性評価としては、14 例中 2 例が MCR、7 例が PCR を示し、特に、中枢神経系と腎障害に於いて、改善傾向が顕著であった。

一方、リツキシマブの作用機序としては、B 細胞分化を制御してナイーブ B 細胞の再構築を生じ、長期寛解導入と免疫複合体が関与する腎障害などが改善したと考えられた（液性免疫の制御）。また、中枢神経症状の速やかな改善については、共刺激分子を発現するメモリー B 細胞を優先的に除去して B-T 細胞間相互作用を制御し、血管障害などを改善した（細胞性免疫の制御）可能性も考えられた。さらに、DNA マイクロアレイによりリツキシマブ投与による末梢血 mRNA の発現変動解析では、RANKL、IL-32、シャペロン蛋白質、LCK などのシグナル関連分子などリンパ球や脳に発現する分子などが低下し、B 細胞除去による発現頻度はむしろ軽微で、B 細胞のみならず幅広い免疫系への影響が示唆された。

## E. 結論

SLE の治療における B 細胞を標的とした生物学的製剤が、病態解明や治療にブレークスルーを齎す可能性が明らかになった。抗 CD20 抗体リツキシマブにより 20 例中 13 例で 1～17 ヶ月以内に寛解導入を可能とし、5 例は 2 年以上寛解を維持した。殊に、精神神経 SLE やループス腎炎を伴う SLE で奏功した。また、中～重度の flare を有する SLE に対してリツキシマブを用いた GCP 準拠第 I / II 相臨床試験を実践し[全薬工業(株)主導]、有効性、副作用、HACA 産生などの問題点の検証を行った。また、抗 CD20 抗体の作用機序として、CD20 陽性 B 細胞を除去することにより B 細胞分化を初期の段階で制御してナイーブ B 細胞の再構築を生じたと共に、共刺激分子を高発現するメモリー B 細胞を優先的に除去して、B-T 細胞間相互作用を制御した可能性が示唆された。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tokunaga M, Fujii K, Saito K, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Tanaka Y. Down-regulation of CD40 and CD80 on B cells in patients with life-threatening systemic lupus erythematosus after successful treatment with rituximab. *Rheumatology* (2005) 44: 176-182
2. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Nakano K, Tanaka Y. Clinical relevance of expression of P-glycoprotein on peripheral lymphocytes to steroid-resistance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (2005) 52, 1676-1683
3. Saito K, Nawata M, Iwata S, Tokunaga M, Tanaka Y. Extremely high titre of antihuman chimeric antibody following re-treatment with rituximab in a patient with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* (2005) 44, 1462-1464
4. Tanaka Y, Tokunaga M. Rituximab reduces both quantity and quality of B cells in SLE. *Rheumatology* (2006) 45: 122-123
5. Tsujimura S, Saito K, Kohno K, Tanaka Y. Fragmented hyaluronan induces transcriptional up-regulation of the multidrug resistance-1 gene in CD4+ T cells. *J Biol Chem* (2006) 281, 38089-97
6. Tanaka Y. Anti-CD20 and other novel biotherapies for systemic lupus erythematosus. *APLAR J Rheumatol* (2006) 9, 413-418
7. Tsujimura S, Saito K, Nakayamada S, Tanaka Y. Relevance of multidrug resistance 1 and P-glycoprotein to drug resistance in patients with systemic lupus erythematosus *Histol Histopathol* (2007) 22, 465-468
8. Tanaka Y, Yamamoto K, Takeuchi T, Nishimoto N, Miyasaka N, Sumida T, Shima Y, Takada K, Matsumoto I, Saito K, Koike T. A multi-center phase I/II trial of rituximab for refractory systemic lupus erythematosus.

- Mod Rheumatol (2007) 17, 191-197
9. Tokunaga M, Saito K, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, Nakayamada S, Tsujimura S, Nawata M, Iwata S, Azuma T, Mimori T, Tanaka Y. Efficacy of rituximab (anti-CD20) for refractory systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Ann Rheum Dis* (2007) 66, 470-475
  10. Nakayamada S, Saito K, Nakano K, Tanaka Y.  $\beta 1$  integrin transduces an activation signal in T cells of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* (2007) 56, 1559-1568
  11. Sawamukai N, Saito K, Yamaoka K, Nakayamada S, Ra C, Tanaka Y. Leflunomide inhibits PDK1/Akt pathway and induces apoptosis of human mast cells. *J Immunol* (2007) 179: 6479-84
  12. Tanaka Y. B cell-targeting therapy using anti-CD20 antibody rituximab in inflammatory autoimmune diseases. *Internal Medicine* (in press)
- ## 2. 学会発表
1. Tanaka Y, Tokunaga M, Kawabata D, Imura Y, Fujii T, Nawata M, Tsujimura S, Nakayamada S, Mimoro M, Saito K. Efficacy of Rituximab (anti-CD20) for Refractory Systemic Lupus Erythematosus Involving the Central Nervous System. The 69<sup>th</sup> National Meeting of American college of Rheumatology, San Diego. 2005 年
  2. 田中良哉. 生物学的製剤と膠原病の臨床: 治療のブレイクスルーを目指して. 第 102 回日本内科学会総会(教育講演)大阪. 平成 17 年
  3. 田中良哉. B 細胞を標的とした SLE の治療. 第 49 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)横浜. 平成 17 年
  4. 田中良哉. 膠原病における免疫抑制 — 生物学的製剤によるパラダイムシフト —. 第 26 回日本炎症・再生医学会総会(シンポジウム)東京. 平成 17 年
  5. 田中良哉. SLE に対する抗 CD20 抗体療法. 第 55 回日本アレルギー学会秋季学術大会(シンポジウム)盛岡, 平成 17 年
  6. 田中良哉. 炎症性免疫疾患に対する抗 CD20 抗体療法. 第 103 回日本内科学会(シンポジウム)横浜. 平成 18 年 4 月 14-16 日
  7. 田中良哉. B 細胞の CD20 をターゲットとしたリウマチ性疾患の治療戦略. 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
  8. 田中良哉, 山本一彦, 竹内勤, 西本憲弘, 宮坂信之, 住田孝之, 三森経世, 小池隆夫. 全身性エリテマトーデスを対象とした抗 CD20 モノクローナル抗体リツキシマブの臨床第 I / II 相試験(中間報告). 第 50 回日本リウマチ学会総会・学術集会(シンポジウム)長崎. 平成 18 年 4 月 23-26 日
  9. 田中良哉. 治療抵抗性 SLE の免疫抑制薬療法. 第 27 回日本炎症・再生学会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 7 月 11 日~7 月 12 日
  10. 田中良哉. CD20 抗体療法による炎症性免疫疾患の治療. 第 27 回日本臨床薬理学会年会(シンポジウム)東京. 平成 18 年 11 月 29 日-12 月 1 日
  11. Tanaka Y. An emerging strategy for the treatment of SLE: Can B-cell-targeting biologics break through the treatment? The 1<sup>st</sup> Lupus International Symposium: Clinical Science (シンポジウム), Seoul. 平成 19 年 5 月 21-22 日
  12. Tanaka Y, Tokunaga T, Nawata M, Suzuki K, Iwata S, Yamaoka K, Nakayamada S, Saito K. Long-term Benefits of Rituximab (Anti-CD20) for Refractory Systemic Lupus Erythematosus. Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2007, Barcelona. 平成 19 年 6 月 13-17 日
  13. Tanaka Y, Tokunaga M, Nawata M, Suzuki K, Iwata S, Yamaoka K, Saito K. Long-term follow up of rituximab (anti-CD20) therapy for refractory systemic lupus erythematosus. The 71<sup>st</sup> National Meeting of American college of Rheumatology, Boston. 平成 19 年 11 月 6-11 日
  14. 田中良哉. SLE の新規治療への挑戦 ~薬物抵抗性の克服と新規生物学的製剤の導入~. 第 51 回日本リウマチ学会総会学術集会(シンポジウム)横浜. 平成 19 年 4 月 26-29 日
  15. B 細胞を標的とした炎症性免疫疾患の制御. 第 28 回日本炎症・再生医学会(シンポジウム)東京. 平成 19 年 8 月 2-3 日
  16. 田中良哉. B 細胞. 第 35 回日本臨床免疫学会総会(シンポジウム)東京. 平成 19 年 10 月

19-20 日

17. 田中良哉. 抗 CD20 抗体による治療 ～基礎から臨床での新展開まで～. 第 57 回日本アレルギー学会総会(シンポジウム)横浜. 平成 19 年 11 月 1-3 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

- 1) Fas 抗原発現増強剤(特許出願番号: 特開 2003-171282)
- 2) Akt シグナル経路の活性化阻害を目的として使用するレフルノミド(特願 2005-81972)

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

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

難治性自己免疫疾患に対する自己末梢血 CD34 陽性細胞移植に関する研究

分担研究者 原田 実根 九州大学大学院医学研究院 病態修復内科学分野・教授／共同研究員  
国立病院機構・大牟田病院・院長  
研究協力者 塚本 浩 九州大学病院 免疫・膠原病・感染症内科・助教

研究要旨

難治性自己免疫疾患患者に対する自己末梢血CD34陽性細胞移植(自己PBSCT)の有効性と安全性を検討すると共に全身性硬化症(SSc)11例を対象に免疫学的再構築の解析を行った。SSc11例、皮膚筋炎2例、ウェゲナー肉芽腫症1例に対し自己PBSCTを施行し、治療関連死は認めず、自己PBSCT後皮膚硬化、間質性肺炎、皮膚潰瘍の改善や自己抗体の低下を認めた。CD4陽性T細胞の回復の遅延やTh1/Th2バランスのTh1優位へのシフトが本療法後3年間持続しており、病態の改善に関与している可能性が示唆された。難治性自己免疫疾患患者に対する自己PBSCTは安全かつ有効な治療法であると考えられた。

A. 研究目的

難治性自己免疫疾患患者に対する自己末梢血CD34陽性細胞移植(自己PBSCT)の安全性と有効性を検討すると共に、自己PBSCT後の免疫学的再構築の解析を目的とした。

B. 研究方法

対象疾患は全身性硬化症(SSc)、皮膚筋炎(DM)、その他従来の治療に抵抗性の自己免疫疾患とし、疾患ごとに適格基準とともに除外基準を設けた。末梢血幹細胞の動員にはCY4g/m<sup>2</sup>に引き続きG-CSFを投与しアフエレーシスによって大量の末梢血幹細胞採取を行った。採取した末梢血単核球は自己反応性のリンパ球を除去する目的でCliniMACSを用いてCD34陽性細胞に純化した。移植前治療としてはCY200mg/kgを単独投与し、移植当日に2x10<sup>6</sup>/kg以上のCD34陽性細胞を輸注した。免疫学的再構築の検討のためフローサイトメトリーを用いて自己PBSCT前後のリンパ球サブセット、Th1/Th2バランス(CD4陽性細胞内IFN $\gamma$ /IL-4比)の解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は九州大学大学院医学研究院倫理委員会の承認を得ている。本療法の施行にあたって

は全例に対し、説明と同意の取得を行っている。

C. 研究結果

以上のプロトコールに従って、SSc11例、皮膚筋炎2例、ウェゲナー肉芽腫症1例に対し自己PBSCTを施行した。合併症としてアデノウイルス膀胱炎、帯状疱疹、サイトメガロウイルス抗原血症等を認めたが、いずれも抗ウイルス剤の投与で改善・軽快した。移植関連死は認めなかったが、1例がSScに伴う間質性肺炎の進行のため自己PBSCT後20ヶ月で死亡した。原疾患に対する効果について、SScではスキンスコアが12ヶ月後には約70%の改善を示し、36ヶ月後も効果は持続していた。%VCやDLCOについて自己PBSCT36ヶ月後まで悪化を認めず、間質性肺炎の進行を阻止できたと考えられた。抗Sc1-70抗体価は、自己PBSCT6ヶ月後に治療前の1/4まで低下しその効果は36ヶ月後まで持続した。

皮膚筋炎症例では合併する進行性間質性肺炎や難治性皮膚潰瘍の改善がみられた。ウェゲナー肉芽腫症の症例は、自己PBSCT後眼窩内腫瘍の改善を認め、感染症の合併もなかったが、19ヶ月後に眼窩内腫瘍の再増大傾向を認めた。SSc11例における免疫学的再構築の解析では、CD4陽性T細胞の回復は自己PBSCT後1-6ヶ月

は著しく抑制され、36ヶ月後もCD4/CD8比は0.5未満に留まった。CD4CD45RA陽性T細胞の回復は、CD4CD45RO陽性T細胞の回復に比較し著しく遅延した。B細胞は12ヶ月後に治療前値まで回復し、内訳ではCD27陽性B細胞に比しCD27陰性B細胞の割合が増加した。Th1/Th2バランスは自己PBSCT後36ヶ月間Th1優位の状態が持続した。

#### D. 考察

治療不応性の自己免疫疾患に対する自己PBSCTの安全性および有効性が確認された。大量免疫抑制療法と自己PBSCTを受けた14例では1例も治療関連死を認めず、安全性に関しては良好な結果といえる。移植片よりリンパ球が除去されているため高頻度にウイルス感染を認めた。疾患によっても異なるが、例えばSScに対する自己PBSCTのヨーロッパにおける治療関連死亡率は7%程度と報告されている。有効性に関し、自験例ではSScにおける皮膚硬化、間質性肺炎、皮膚筋炎に合併する間質性肺炎、ウェゲナー肉芽腫症の肉芽腫が改善した。また、SScや皮膚筋炎においてその効果は少なくとも3年間持続することが明らかになった。

本研究において、自己PBSCT36ヶ月後でもCD4陽性T細胞の低下が遷延していることが明らかになった。特にナイーブT細胞と考えられるCD4CD45RA陽性T細胞の回復が遅延しており、胸腺を介したCD4陽性T細胞の成熟の遅延が示唆された。一方、CD8陽性T細胞の回復は速やかで、自己PBSCT1ヶ月後には治療前値まで回復した。

SScにおけるB細胞サブセットはCD27陽性すなわちメモリーB細胞の割合の低下が特徴とされているが自己PBSCT後はさらにメモリーB細胞の割合が低下した。

SScはTh1/Th2バランスではTh2優位の疾患といわれているが、自己PBSCT後はTh1へシフトしており、病態改善と関連している可能性がある。

#### E. 結論

難治性自己免疫疾患患者に対する自己PBSCTは安全かつ有効な治療法である事が示されるとともに、その臨床効果は3年以上持続することが示唆された。CD4陽性T細胞の減少や

Th1/Th2バランスの変化が本療法後3年間持続しており、病態の改善に参与している可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Mitoma,H., Horiuchi,T., Hatta,N., Tsukamoto,H., Harashima,S., Kikuchi,Y., Otsuka,J., Okamura,S., Fujita S., Harada,M. Infliximab induces potent anti-inflammatory responses by outside-to-inside signals through transmembrane TNF- $\alpha$ . *Gastroenterology* 128 376-392. 2005
2. Ishikawa,F., Yasukawa,M., Lyons,B., Yoshida,S., Miyamoto,T., Yoshimoto,G., Watanabe,T., Akashi,K., Shultz,LD., Harada,M. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor  $\gamma$  hain<sup>nuU</sup> mice. *Blood* 106 1565 - 1573. 2005
3. Imamura,R., Miyamoto,T., Yoshimoto,G., Kamezaki,K., Ishikawa,F., Henzan,H., Kato,K., Takase,K., Numata,A., Nagafuji,K., Okamura,T., Sata,M., Harada,M., Inaba,S. Mobilization of human lymphoid progenitors after treatment with granulocyte colony-stimulating factor. *J Immunol* 175 2647-2654. 2005
4. Tsukamoto,H., Nagafuji,K., Horiuchi,T., Miyamoto,T., Aoki,K., Takase,K., Henzan,H., Himeji,D., Koyoma,T., Miyake,K., Inoue,Y., Nakashima,H., Otsuka,T., Tanaka,Y., Nagasawa,K., Harada,M. A phase I-II trial of autologous peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of refractory autoimmune disease. *Ann Rheum Dis* 65 508-514. 2006
5. Shimoda,S., Ishikawa,F., Kamihira,T., Komori,A., Niino,H., Baba,E., Harada,K., Isse,K., Nakanuma,Y., Ishibashi,H., Gershwin,ME., Harada,M. Autoreactive T-cell responses in primary biliary cirrhosis are proinflammatory whereas those of controls are regulatory. *Gastroenterology* 131 606-618. 2006

6. Ishikawa,F., Shimazu,H., Shultz,LD., Fukata,M., Nakamura,R., Lyons,B., Shimoda,K., Shimoda,S., Kanemaru,T., Nakamura,K., Ito H., Kaji,Y., Perry,AC., Harada, M. Purified human hematopoietic stem cells contribute to the generation of cardiomyocytes through cell fusion. *FASEB J* 20 950-952. 2006
7. Kunisaki,Y., Tanaka,Y., Sanui,T., Inayoshi, A., Noda,M., Nakayama,T., Harada,M., Taniguchi,M., Sasazuki,T., Fukui,Y. DOCK2 is required in T cell precursors for development of Valpha14 NK T cells. *J Immunol* 176 4640-4645. 2007
8. Sakoda,Y., Hashimoto,D., Asakura,S., Takeuchi,K., Harada,M., Tanimoto,M., Teshima,T. Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease. *Blood* 109 1756-1764. 2007
9. Horiuchi,T., Kiyohara,C., Tsukamoto,H., Sawabe ,T., Furugo,I., Yoshizawa,S., Ueda,A., Nakamura,T., Tada,Y., Kimoto,Y., Mitoma,H., Harashima,SI., Yoshizawa ,S., Shimoda,T., Okamura, S., Nagasawa,K., Harada,M. A functional M196R polymorphism of tumor necrosis factor receptor type 2 is associated with systemic lupus erythematosus: A case-control study and a meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 66 320-324. 2007
10. Mitoma,H., Horiuchi,T., Tsukamoto,H., Tamimoto,Y., Kimoto,Y., Uchino,A., To,K. Harashima,S., Hatta,N., Harada, M. Mechanism for cytotoxic effects of anti-TNF- $\alpha$  agents on transmembrane TNF-expressing cells: comparison among infliximab, etanercept and adalibmab. *Arthritis Rheum* (in press). 2008
3. Fukata M, Ishikawa F, ShimazuH, Nakamura R, Shimoda K, Akashi K, Shultz LD, Harada M: Highly purified hematopoietic stem cell can generate cardiomyocytes via myeloid progenitors through cell fusion. The 48th Annual Meeting of American Society of Hematology, Orland, USA, December 9-11, 2006
4. Harada M: Studying human leukemic stem cells in mice (Special Lecture). 1<sup>st</sup> Chinese hematological medical doctor association forum. Beijing, China, May 19, 2007
5. Takenaka K, Prasolava TK, Wang JC, Mortin-Toth SM, Gan OI, Khalouei D, Dick JE, Danska JS: Identification of a new genetic determinant controlling human hematopoietic stem cell engraftment. Atlanta, USA, December 8-11, 2007
6. Saito N, Ishikawa F, Shimoda K, Yoshida S, Saito Y, Fukata M, Kawano N, Shulz LD, Akashi K, Harada M: Transplantation of primary human CD34+CD38-Hematopoietic stem cells recapitulates idiopathic myelofibrosis in the NOD/scid/IL2rgKO mice. Atlanta, USA, December 8-11, 2007
7. Shide K, Shimoda H, Kumano T, Karube K, Kameda T, Oku S, Takenaka K, Suzuki K, Kubuki Y, Harada M, Shimoda K: Expression of V617F Jak2 in mice leads to MPD mimicking human ET, idiopahtic myelofibrosis and PV. Atlanta, USA, December 8-11, 2007

## 2. 学会発表

1. Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Nakashima H, Harada M. High-dose immunosuppression and autologous peripheral blood stem cell transplantation in severe rheumatic disease: improvement of interstitial pneumonia. 2005 ACR/ARHP annual scientific meeting, November 14-17, 2005, San Diego, USA.
2. Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Harada M: High-dose immune suppressive therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for systemic sclerosis:

H.知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

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

## 自己免疫疾患における自己抗体産生 B 細胞を標的とした治療法の開発

分担研究者 長澤浩平 佐賀大学医学部内科 教授  
研究協力者 小荒田秀一 佐賀大学医学部内科 助教

### 研究要旨

自己免疫疾患では自己反応性T細胞とならんで、自己抗体産生B細胞は病態形成の主要な部分を占めている。自己抗体産生B細胞を標的とした治療法は難治性自己免疫疾患の有用な治療法となる。しかし、自己抗体産生B細胞を標的とする自己免疫疾患の有効な治療法は現在のところ確立されていない。PII105陰性B細胞は、抗ΔNA抗体をはじめとした自己抗体を産生し自己免疫病態に深く関与していることが明らかになった。PII105陰性B細胞の出現維持機構を解明するとともに、同細胞を標的とした新たな治療法の開発を検討した。自己抗体産生PII105陰性B細胞を標的とすることにより、病的細胞に限定した、より効果的かつ安全な治療法が開発できる可能性等が明らかになった。

### A. 研究目的

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

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

また、最近、最近、RP105 は TLR-4 のシグナル抑制に働いていることが報告された。RP105 は免疫系の恒常性維持や自己反応性の制御に与っている可能性も指摘されている。したがって、B 細胞で RP105 が欠損すると、B 細胞は常に活性化された状態となり自己免疫病態につながる可能性

がある。そこで、SLE などの自己免疫疾患で、RP105 分子の発現や、疾患活動性との関連、自己抗体産生等を検討した。さらに RP105 陰性 B 細胞のフェノタイプ解析を行い B 細胞分化での位置づけを行った。B 細胞活性化や分化に関与する BAFF, APRIL, CD40L の RP105 陰性 B 細胞の生存に対する影響を *in vitro* において検討した。さらに RP105 陰性 B 細胞を治療標的とするために DNA Chip を利用して特異的に発現する膜表面分子の同定を試みた。そして、候補分子に特異的な抗体の作成中である。この抗体による RP105 陰性 B 細胞特異的認識と細胞傷害活性について検討を行っている。

### B. 研究方法

全身性エリテマトーデス (SLE)、シェーグレン症候群、皮膚筋炎、多発性筋炎などの自己免疫疾患において、RP105 と CD19 による 2 重染色を行い FACS で解析した。そのさいに、SLE の活動期と寛解期に分け解析を行った。活動性患者で、RP105 陰性 B 細胞と陽性細胞をセルソータで分離し、種々の条件で培養し、上清中 IgG 濃度、抗 DNA 抗体産生を ELISA 解析した。皮膚筋炎患者では、気管支肺胞法洗浄液の CD19 と RP105 による FACS 解析を、シェーグレン症候群では、小唾液腺の免疫組織染色を RP105 と CD20 にて行った。また、SLE 患者において、RP105 陰性 B 細胞のフェノタイプの解析をフローサイトメトリーと DNA

chip解析により行った。in vitroでのRP105陰性B細胞の誘導および生存をBAFF, APRIL, CD40Lなどの存在下に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究に関して佐賀大学医学部倫理委員会による承認を得ている。患者より10-20ml採血を行うが、安全性に問題ないと考えられる。患者に対して文書にて十分な説明を行い、同意書により意思の確認を行っている。個人情報についても符号匿名化し取り扱っており、遺漏の可能性はない。

C.研究結果

1. SLE

SLEは、ポリクローナルな免疫グロブリンの産生や抗DNA抗体、抗Sm抗体などの各種自己抗体の産生を伴いB細胞機能が自己免疫病態に重要である。SLE患者(n=62)と正常コントロール(n=26)の末梢血由来のB細胞上RP105の発現を解析した。正常のCD19陽性のB細胞はRP105を発現していたが、SLEでは、RP105の発現が消失したB細胞が認められた(図1)。

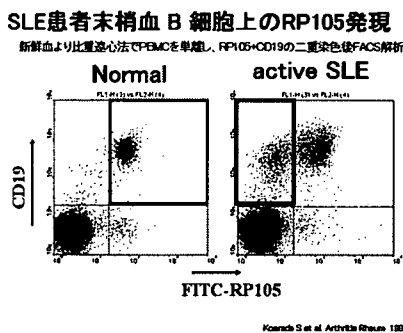


図1

RP105陰性B細胞比率の解析を行ったところ、SLE患者では15.9±11.7%で正常の1.7±1.1%に比較して有意な増加がみられた(p<0.01)(図2)。また、疾患活動期は、寛解期に比し、RP105陰性B細胞数の増加がみられた(p<0.001)。

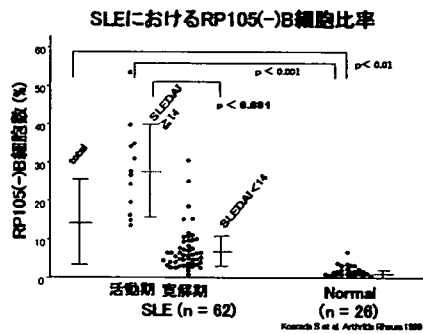


図2

SLEの疾患活動性とRP105陰性B細胞数の相関について検討した。SLEの疾患活動性の指標としてSLEDAIをとると、RP105陰性B細胞数と、正の相関を示した。また、B細胞機能の一つであるIgG濃度とRP105陰性B細胞数は正の相関を示した。

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

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

つぎに、RP105陰性B細胞によるIgGクラスの抗DNA抗体の産生をELISAにて検討した。RP105陰性B細胞は、抗ssDNA抗体と抗dsDNA抗体の産生を行っていた。一方、RP105陽性B細胞からの抗DNA抗体の産生はみられなかった。このことから、RP105陰性B細胞は、SLEにおける自



己抗体産生 B 細胞であることが示された(図 3)。

**RP105陰性B細胞によるIgGクラス抗DNA抗体産生能**

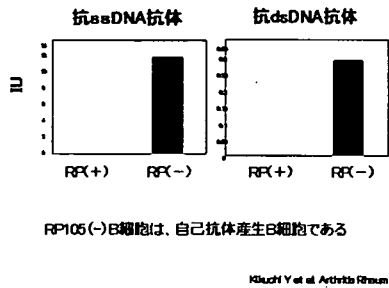


図 3

RP105 陰性 B 細胞のフェノタイプ解析を行った。RP105 陰性 B 細胞は、RP105 陽性 B 細胞と比較し、細胞径の増大を認め、CD95+、CD80+、CD38+で、活性化 B 細胞であった。また、CD5 は陰性で B 1 細胞とは異なるサブセットを形成していた。RP105 陰性 B 細胞は、細胞表面に免疫グロブリンを発現せず、細胞内に少量の IgM と豊富な IgG の産生を認めた。また、CD20(-)、CD27(+)、CD138(dull)であり、B 細胞分化の後期のフェノタイプを示していた。このことから、RP105 陰性 B 細胞は、機能的には抗体産生を行っている活性化 B 細胞であると定義される。また、分化の面からは RP105 陰性 B 細胞は、メモリー B 細胞から形質細胞にいたる過程の後期 B 細胞のサブセットの一つであると考えられる(図 4)。しかしながら、RP105 陰性 B 細胞と完全に合致する細胞サブセットはなく新たなサブセットを形成していると考えられる。

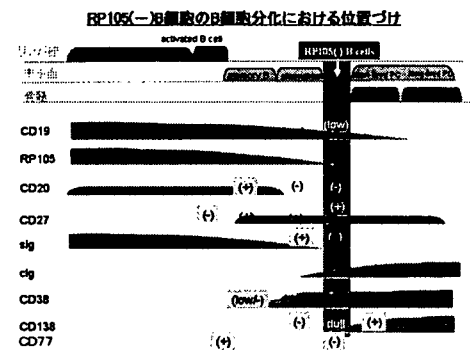


図 4

**2. 皮膚筋炎・多発性筋炎**

皮膚筋炎と多発性筋炎は、皮膚症状を除くとほぼ同一疾患と考えられることがあるが、皮膚筋炎では液性免疫、多発性筋炎では細胞性免疫の亢進がみられる。また、皮膚筋炎における間

質性肺炎は予後不良であり、臨床上也問題となっている。皮膚筋炎と多発性筋炎における RP105 陰性 B 細胞を FACS 解析した。皮膚筋炎では、全ての患者で RP105 陰性 B 細胞の増加(平均 31.2%)がみられたが、多発性筋炎ではみられなかった ( $p < 0.05$ ) (図 5)。

**PM/DMIにおけるRP105(-)細胞比率の比較**

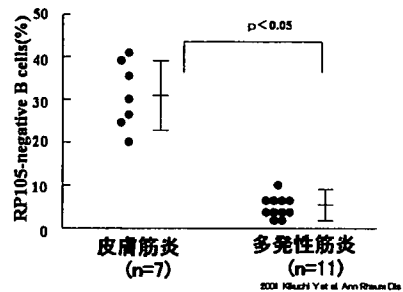


図 5

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

**3. シェーグレン症候群**

シェーグレン症候群は、高ガンマグロブリン血症やポリクロナール B 細胞活性化がみられ、抗 SS-A 抗体や抗 SS-B 抗体などの自己抗体を産生し、悪性リンパ腫の発生が臨床で問題となることがある。

シェーグレン症候群でも RP105 陰性 B 細胞の増加がみられた ( $16.0 \pm 12.1\%$ ) ( $p < 0.01$ ) (図 6)。

**シェーグレン症候群患者でのRP105陰性B細胞数**

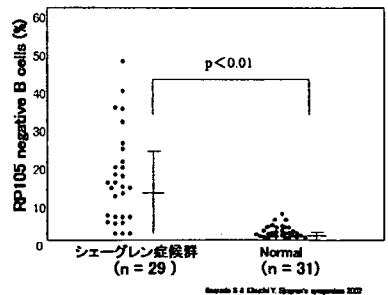


図6

シェーグレン症候群の小唾液腺免疫組織染色では、唾液腺組織浸潤 B 細胞のほとんどが RP105 陰性であった。シェーグレン症候群における小

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

表 1

シェーグレン症候群における RP105 陰性 B 細胞と免疫学的特徴

Pt	Age	Sex	IgG (mg/d)	Anti-SS-A	Anti-SS-B	丘中心形成	組織における RP105(-) B cell (%)
1	53	F	3210	+	-	-	20.5
2	48	F	3519	-	-	+	24.7
3	28	F	3467	+	+	-	37.5
4	17	F	4337	+	-	-	43.8
5	76	F	2211	+	-	-	47.3
6	48	F	2401	-	-	+	61.2
7	60	F	1880	+	+	-	76.2
8	45	F	4030	+	+	-	100
9	22	F	3528	+	+	-	100

2002 Yamada S & Okada Y. Sjogren's syndrome

#### 4. RP105 陰性 B 細胞の誘導・維持機構

SLE 由来の RP105 陰性 B 細胞が *in vitro* において BAFF や APRIL などの液性因子により誘導されたり、その生存が維持されるかどうかを検討した。まず、BAFF 存在下では RP105 陰性 B 細胞の生存率の増加が誘導されたが、RP105 陽性 B 細胞や健常者由来の RP105 陰性 B 細胞では生存は誘導されなかった(図 7)。

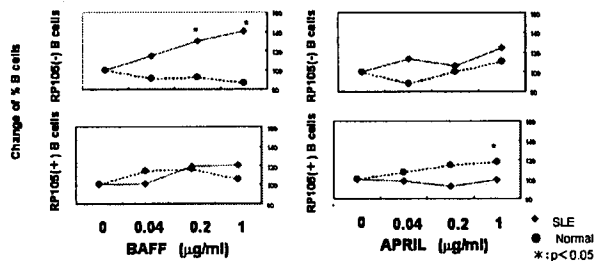


図 7

また、CD40L シグナルの RP105 陰性 B 細胞への影響についても検討を行ったところ、*in vitro* における RP105 陰性 B 細胞相対比率の増加は単量体 sCD40L では誘導されなかったが、3 量体 sCD40L の強い刺激で誘導された(図 8)。

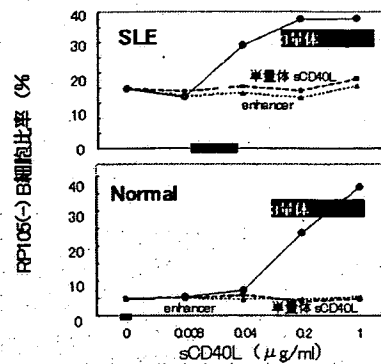


図 8

#### 5. RP105 陰性 B 細胞特異的抗体の作成と治療戦略

RP105 陰性 B 細胞に特異的に発現する新規分子の同定と、その分子に対する特異的抗体を作成しているところである。タンパク質レベルでの RP105 陰性 B 細胞特異的な分子の発現の確認および標的細胞に対する作成した抗体による細胞傷害活性の測定も施行中である。また、既知分子としては、BCMA (B cell maturation antigen) が特異的に発現していることを認めており、候補分子の 1 つとして有力である(図 9)。

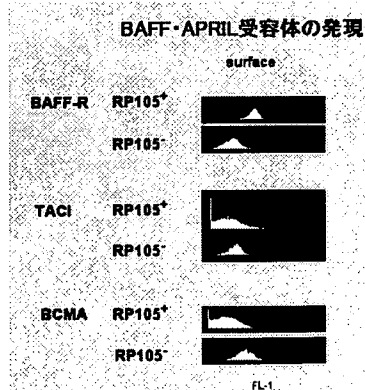


図 9

#### D. 考察

B 細胞恒常性維持にかかわる RP105 が欠損した場合、B 細胞の異常活性化が持続し自己免疫病態に寄与する可能性が考えられる。RP105 陰性 B 細胞は自己抗体産生 B 細胞であり、B 細胞分化の過程で新たなヒト B 細胞サブセットを形成している。このような自己抗体産生 B 細胞サブセットの末梢での病的集積が自己免疫病態に大きく寄与している可能性がある。

RP105 陰性 B 細胞を制御する方法として、RP105 陰性 B 細胞の除去が挙げられる。そのために、RP105 陰性 B 細胞に特異的に発現する抗原を同定

し特異的抗体を作成する方法が考えられる。RP105 陰性 B 細胞特異的分子の同定を試みるとともに新分子に対する抗体を開発中である。今後、これらの抗体を利用して生物学的製剤の臨床的開発にあたる。もう一つの方法として、RP105 陰性 B 細胞クローン拡大の制御がある。RP105 陰性 B 細胞数の拡大をきたすような要因であるサイトカイン、共刺激分子、感染因子、細胞因子、遺伝的素因などを解明し、それを抑制する方法である。RP105 陰性 B 細胞は、BAFF/3 量体 sCD40L により生存が維持され、BCMA の発現が増強している。これらは治療標的として有用であると考えられる。

RP105 陰性 B 細胞特異的治療法により、自己反応性 B 細胞の除去・制御が可能となれば、自己抗体産生が抑制され、自己免疫疾患の治療に繋がると思われる。RP105 陰性 B 細胞を標的とした新規治療の開発上の利点として、治療標的のスペクトラムが狭い特異的治療であり、正常 B 細胞に対する影響が少ないために、安全性や副作用の面で優れている可能性が考えられる。しかし、ヒトにおける RP105 陰性 B 細胞には、未知の部分が多く、臨床応用に向けて今後も研究が必要である。

## E. 結論

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

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Koarada S, Ide M, Haruta Y, Tada Y, Ushiyama O, Morito F, Ohta A, Nagasawa K. Two cases of antinuclear antibody negative lupus showing increased proportion of RP105-lacking B cells. *J Rheumatol.* 32(3): 562-4, 2005
- 2) Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Horiuchi T, Tsukamoto H, Murai K, Ueda A, Yoshizawa S, Ohta A. Very early development of steroid-associated osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus: prospective study by MRI. *Lupus.* 14(4): 385-90, 2005
- 3) Koarada S, Haruta Y, Mitamura M, Tada Y, Morito F, Ohta A, Nagasawa K. Ex Vivo CD4+ T Cell Cytokine Expression from Patients with Sjögren's

- Syndrome Following In Vitro Stimulation to Induce Proliferation. *Rheumatology* 45: 392-9, 2006
- 4) Sherriff-Tadano R, Ohta A, Morito F, Mitamura M, Haruta Y, Koarada S, Tada Y, Nagasawa K, Ozaki I. Antifibrotic effects of hepatocyte growth factor on scleroderma fibroblasts and analysis of its mechanism. *Mod Rheumatol.* 16:364-71, 2006
  - 5) Tada Y, Koarada S, Haruta Y, Mitamura M, Ohta A, Nagasawa K. The association of Behcet's disease with myelodysplastic syndrome in Japan: A review of the literature. *Clin Exp Rheumatol* 24: S115-9, 2006
  - 6) Nagasawa K, Tada Y, Koarada S, Tsukamoto H, Horiuchi T, Yoshizawa S, Murai K, Ueda A, Haruta Y, Ohta A. Prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head in systemic lupus erythematosus by anti-coagulant. *Lupus* 15: 354-7, 2006
  - 7) Tada Y, Koarada S, Tomiyoshi Y, Morito F, Mitamura M, Haruta Y, Ohta A, Nagasawa K. Role of inducible costimulator in the development of lupus in MRL/lpr mice. *Clin Immunol* 120: 179-88, 2006
  - 8) Horiuchi T, Kiyohara C, Tsukamoto H, Sawabe T, Furugo I, Yoshizawa S, Ueda A, Tada Y, Kimoto Y, Mitoma H, Harashima S, Yoshizawa S, Shimoda T, Okamura S, Nagasawa K and Harada M.: A functional M196R polymorphism of tumour necrosis factor receptor type 2 is associated with systemic lupus erythematosus: a case-control study and a meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 66: 320-324, 2007.
  - 9) Haruta Y, Koarada S, Tada Y, Mitamura M, Ohta A, Fukuoka M, Hayashi S, Nagasawa K. High expression of Toll-like receptor 4 on CD14+ monocytes in acute infectious diseases. *Scand J Infect Dis.* 39(6-7):577-83, 2007
  - 10) Hayashi S, Tanaka M, Kobayashi H, Nakazono T, Satoh T, Fukuno Y, Aragane N, Tada Y, Koarada S, Ohta A, Nagasawa K. High-Resolution Computed Tomography Characterization of Interstitial Lung Diseases in Polymyositis/Dermatomyositis. *J Rheumatol.* 2007 Dec 15; [Epub ahead of print]
  - 11) Kikuchi Y, Koarada S, Nakamura S, Yonemitsu N, Tada Y, Haruta Y, Morito F, Ohta A, Miyake K, Horiuchi T and Nagasawa K.: Increase of RP105-lacking activated B cells in the peripheral blood and salivary glands in patients with Sjogren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* in press.
  - 12) 小荒田秀一, 長澤浩平. SLE の発症機序と新たな治療法の探索 SLE における RP105 陰性 B 細胞の意義(解説/特集). *リウマチ科* 38: 113-120, 2007

## 学会発表

- 1) 春田善男, 小荒田秀一, 多田芳史, 三田村未央, 大田明英, 長澤浩平. 膠原病における樹上細胞上の Toll like receptors 発現の検討. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 Page257(2005. 04)
- 2) 多田芳史, 小荒田秀一, 春田善男, 三田村未央, 大田明英, 長澤浩平. MRL/lpr マウスの病態発現における inducible costimulator (ICOS) の役割. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 Page283(2005. 04)
- 3) 春田善男, 小荒田秀一, 多田芳史, 三田村未央, 福岡麻美, 林真一郎, 長澤浩平. 感染症症例における, 樹状細胞上 TLR2, TLR4, RP105 発現の検討. 感染症学雑誌(0387-5911)79 巻3号 Page222(2005. 03)
- 4) 小荒田秀一, 多田芳史, 長澤浩平. 全身性エリテマトーデス 発症の分子機序と新たな治療法 RP105 陰性 B 細胞の意義と治療応用の可能性. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 50 回 Page22 (2006. 03)
- 5) 小荒田秀一, 三田村未央, 春田善男, 多田芳史, 大田明英, 長澤浩平. sero-negative SLE 患者 2 例における RP105 陰性 B 細胞の解析. 日本臨床免疫学会会誌(0911-4300)29 巻4号 Page267(2006. 08)
- 6) 多田芳史, 小荒田秀一, 大田明英, 長澤浩平. Toll-like receptor homolog RP105 のコラーゲン関節炎における作用. 補体シンポジウム講演集 43 巻 Page39(2006. 08)
- 7) 多田芳史, 小荒田秀一, 春田善男, 三田村未央, 大田明英, 長澤浩平. 動物モデルでの関節炎の解析 Rp105 分子の関節炎モデルにおける作用の解析. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 50 回 page126(2006. 03)
- 8) 民本泰浩, 堀内孝彦, 塚本浩, 大塚淳司, 中島衡, 小山貴子, 宮川弘, 仲宗根亜紀, 三苫弘喜, 宮城友豪, 内野愛弓, 木本泰孝, 井上靖, 上田章, 小荒田秀一, 多田芳史, 長澤浩平, 安部康信, 牟田耕一郎, 原田実根. 全身性エリテマトーデスの臨床 難治性自己免疫疾患に対する抗 CD20 モノクローナル抗体療法の臨床第 I/II 相試験. 日本リウマチ学会総会・学術集会抄録集 50 回 page83(2006. 03)
- 9) 多田芳史, 小荒田秀一, 三田村未央, 井上久子, 末松梨絵, 大田明英, 長澤浩平. 日本リウ

マチ学会総会・学術集会・国際リウマチシンポジウムプログラム・抄録集 51 回・16 回 Page381(2007. 04)

- 10) 小荒田秀一, 三田村未央, 末松梨絵, 井上久子, 多田芳史, 大田明英, 長澤浩平. SLE における CD4+T 細胞の細胞分裂と Th1/Th2 サイトカインバランスの関係の検討. 日本臨床免疫学会会誌(0911-4300)30 巻4号 Page318(2007. 08)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

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