

- 学会総会, 大阪 2007
24. 石津明洋, 外丸詩野, 岩崎沙理, 笠原正典, 吉木 敬. 自己血管内皮細胞反応性ラット T 細胞の解析. 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会 横浜 2007
  25. 外丸詩野, 石津明洋, 笠原正典. 潰瘍性大腸炎における末梢血中 NKG2A 陽性 T 細胞の減少と病態への関与. 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会 横浜 2007
  26. 石津明洋, 外丸詩野, 村井太一, 西平 順, 吉木 敬, 尾崎承一. MPO-ANCA 関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトーム解析. 第 12 回血管病理研究会, 岩手 2007
  27. 外丸詩野, 武田広子, 小川弥生, 堀田哲也, 深谷進司, 橋本陶子, 富居一範, 笠原正典, 石津明洋. リツキシマブ投与後に日和見感染症を併発して死亡した顕微鏡的多発血管炎の一剖検例. 第 12 回血管病理研究会, 岩手 2007
  28. Ishizu A, Baba T, Iwasaki S, Tomaru U, Kasahara M, Yoshiki T. CD4+/CD8+ macrophages kill tumor cells through an NKG2D- and granzyme/perforin- dependent mechanism. 第 66 回日本癌学会学術総会 横浜 2007
  29. Ishizu A, Tomaru U, Baba T, Iwasaki S, Sasaki N, Kasahara M, Yoshiki T. Rat T-cells autoreactive with vascular endothelial cells. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007
  30. Iwasaki S, Baba T, Tomaru U, Kasahara M, Ishizu A. CD4+/CD8+ macrophages kill tumor cells through an NKG2D- and granzyme/perforin-dependent mechanism. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007
  31. Tomaru U, Ishizu A, Miyatake Y, Murata S, Tanaka K, Kajikawa M. Expression of thymoproteasomes and its essential role in T cell development. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007
  32. Katsurada T, Tomaru U, Ishizu A, Kasahara M. Decrease of NKG2A+ T cell in peripheral blood in ulcerative colitis. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007
  33. 居石克夫. 動脈硬化と血管新生. 第 8 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム. 2007 年 6 月 7 日~8 日 金沢
  34. Fujii T, Yonemitsu Y, Onimaru M, Sueishi K. VEGF function for upregulation of endogenous PLGF expression during FGF-2-mediated therapeutic angiogenesis. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 2007 年 7 月 6 日~12 日 Geneva, Switzerland
  35. Onimaru M, Yonemitsu Y, Fujii T, Sueishi K. Role of angiopoietin(ANG)-1/Tie-2 signaling pathway for ANG-2 expression in vascular endothelial cells. XXIst Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis 2007 年 7 月 6 日~12 日 Geneva, Switzerland
  36. 中島豊, 住吉真治, トーマス ホワイト, 居石克夫. ヒト早期粥状硬化の発生: 肥厚内膜におけるプロテオグリカンとトリポ蛋白の局在の関連, ならびにマクロファージの浸潤の機序に関する免疫組織化学的検討. 第 39 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2007 年 7 月 13 日~14 日 大阪
  37. 住吉真治, 中島豊, 土井康文, 清原裕, 飯田三雄, 居石克夫. 久山町健診剖検例における冠状動脈動脈硬化の病理組織学的研究: 糖尿病および高血圧の病態学的意義. 第 39 回日本動脈硬化学会総会・学術集会 2007 年 7 月 13 日~14 日 大阪
  38. 西尾壽乗, 鬼丸満穂, 三浦典子, 大野尚仁, 高橋啓, 鈴木和男, 原寿郎, 居石克夫. 抗 VEGF-A 抗体, 抗 TNF $\alpha$  抗体投与によるマウス CAWS 惹起冠動脈炎の発症抑制効果に関する病理検討. 第 48 回日本脈管学会総会 2007 年 10 月 25 日~27 日 松本
  39. 鬼丸満穂, 居石克夫. Tie-2 の可溶性変換機構とそれに伴う Tie-2 関連シグナル修飾に関する分子病理学的検討. 第 48 回日本脈管学会総会 2007 年 10 月 25 日~27 日 松本
  40. 竹下正文, 古賀孝臣, 高祖英典, 吉野一郎, 中西洋一, 前原喜彦, 居石克夫. 非小細胞肺癌における細胞周期制御分子 Aurora-A, B 及び Chfr 発現の臨床病理学的検討. 第 48 回日本肺癌学会総会. 2007 年 11 月 8 日~9 日 名古屋
  41. 鬼丸満穂, 居石克夫. Tie-2 の可溶性変換機構とそれに伴う Tie-2 関連シグナル修飾に関する分子病理学的検討. 第 30 回日本血栓止血学会学術集会 2007 年 11 月 15 日~17 日 志摩
  42. Okano S, Kondo H, Sueishi K. A pivotal role of CD4 T-cells (CD4) for generation of functionally distinct memory CD8 T-cells (mCD8) in tumor immunotherapy (TI) using dendritic cells (DC) 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20 日~22 日 東京
  43. 近藤晴彦, 岡野慎士, 居石克夫. Fas 欠損樹状細胞を用いた抗腫瘍効果の検討. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20 日~22 日 東京
  44. 鬼丸満穂, 居石克夫. Tie-2 の可溶性変換機構とそれに伴う Tie-2 関連シグナル修飾に関する分子病理学的検討. 第 15 回日本血管生物医学会学術大会 2007 年 11 月 29 日~30 日 福岡
  45. Tomokazu Nagao, Mimiko Matsumura, Ayako Mabuchi, Akiko Ishida-Okawara, Haruyuki Minamitani, Toshinori Nakayama, and Kazuo

- Suzuki. Direct Activation of Glomerular Endothelial Cells by Anti-MPO Antibody, 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico
46. Toshiko Ito-Ihara, Kazuo Suzuki, Kazuko Uno, Toshiyuki Komiya, Tomomi Tsujii, Tatsuo Tsukamoto, Takahiko Ono, Atsushi Fukatsu, Toru Kita, Eri Muso. Circulating levels of IL-12, 23 and IL-18 in patients with MPO-ANCA-associated vasculitis. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  47. S Kobayashi, T Ito-Ihara, K Suzuki, S Fujimoto, RA Watts, DG Scott, DJ Jayne, H Hashimoto and the Japan-UK AAV Study Group. INCIDENCE OF ANCA-ASSOCIATED VASCULITIS IN JAPAN: A PRELIMINARY REPORT FROM JAPAN-UK COLLABORATION STUDY. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  48. E. Muso, K. Uno, T. Ito-Ihara, T. Komiya, K. Suzuki. Immunomodulatory effect of intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy in MPO-ANCA related polyangiitis with RPGN by amelioration of impaired IFN  $\alpha$  production (IFN-P) . 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  49. RA Watts, DG Scott, DJ Jayne, S Kobayashi, K Suzuki, H Hashimoto and S Fujimoto EPIDEMIOLOGY OF RENAL ANCA-ASSOCIATED VASCULITIS IN THE UK AND JAPAN. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  50. W. Yumura, J. Yamashita, M. Itabashi, T. Nagao, A. Ishida-Okawara, T. Matsuo, A Hasegawa, Y. Aratani, K. Nitta, T. Nakayama and K. Suzuki. Contribution of CD69 in MPO-ANCA-associated glomerulonephritis in mice. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  51. Kazuko Uno, Eri Muso, Toshiko Ihara, Toshiyuki Komiya, Yoshiki Omatsu, Yoko Mitsuishi, Kayo Inaba, Kazuo Suzuki. Comparison of IFN-alpha production in response to Sendai virus stimulation and the number of peripheral plasmacytoid dendritic cells in healthy subjects and patients with various diseases: Characteristics of MPO-ANCA-associated glomerulonephritis and vasculitis. 13ANCA-Workshop, April 26-29, 2007, Cancun, Mexico.
  52. K. Suzuki. Molecular Events on Damage of Glomerular Endothelial Cells bound with MPO-ANCA, International Symposium on Primary Systemic Vasculitis, September 29, 2007, Tokyo
  53. Kazuo Suzuki. Trace of Myeloperoxidase (MPO) in Vasculitis Development. The 2nd Asian Meeting on Synchrotron Radiation Biomedical Imaging. November 23-25, 2007, Jeju, Korea
  54. Kazuo Suzuki. Current Situation of Synthetic Immunoglobulins and Their Therapeutic Approach. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma - 2008 in Chiba - Therapeutic Strategy for Vasculitis Based on International Collaboration Researches. January 18-19, 2008, Chiba, Japan.
  55. Kensuke Joh, Takashi Nakazato, Takao Sugiyama, Eri Muso, Wako Yumura, Shigeto Kobayashi, Kazuo Suzuki. Morphological variety of MPO-ANCA related renal small vessel vasculitis in Japan : Correlation between histological and clinical parameters. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma - 2008 in Chiba - Therapeutic Strategy for Vasculitis Based on International Collaboration Researches. January 18-19, 2008, Chiba, Japan
  56. Yosuke Kameoka, Masahiro Furutani, Kazuo Suzuki. Prevalence of variety of artificial poly-clonal gamma globulin. International Conference on Regulation of Inflammatory Diseases Vasculitis and Asthma - 2008 in Chiba - Therapeutic Strategy for Vasculitis Based on International Collaboration Researches. January 18-19, 2008, Chiba, Japan.
  57. Shigeto Kobayashi, Shoichi Fujimoto, Kazuo Suzuki. Update Japan/EUVAS projects. March 3-4th 2008, Zurich.
  58. 亀岡洋祐、笠間 毅、鈴木哲朗、猪原登志子、武曾恵理、橋本雄之、鈴木和男「MPO リーダーペプチドは好中球顆粒に局在する」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
  59. 武曾恵理、宇野賀津子、猪原登志子、古宮俊幸、鈴木和男「MPO-ANCA 陽性顕微鏡的血管炎に伴う急速進行性糸球体腎炎に対するIVIg 治療の有効性のエビデンス確立と機序解明に向けて」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
  60. 湯村和子、鈴木和男、中山俊憲「Bovine serum albumin (BSA) 誘導腎炎における CD69 の関与」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
  61. 山西裕司、小林茂人、長尾朋和、鈴木和男、岡崎富男「ウエグナー肉芽腫症の4例」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉

62. 長尾朋和、松村実美子、荒谷康昭、星野昭芳、山本健二、南谷晴之、鈴木和男「好中球自己抗体による糸球体内皮細胞の直接的活性化」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
63. 宇野賀津子、猪原登志子、藤田哲也、鈴木和男、武曾恵理「Bioplexによる血漿中サイトカイン・ケモカインの解析：その有用性と問題点」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
64. 小野孝彦、日浅俊介、上村和秀、雑賀寛、猪原登志子、武曾恵理、大川原明子、鈴木和男「ANCA 関連腎炎モデル SCG/Kj マウスにおける肺の組織像および血管病変の腎との比較検討」炎症制御フォーラム千葉、2007年7月13-14日、千葉
65. 宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木克己、猪原登志子、三石瑠子、村上善基、小宮俊幸、鈴木和男「IFN- $\alpha$ 産生能とプラズマサイトイド樹状細胞数：健常人と癌、HCV 肝炎、MPO-ANCA 腎炎の比較」第7回高加齢学会、2007年7月20-21日、京都
66. 宇野賀津子、武曾恵理、尾松芳樹、八木克己、猪原登志子、三石瑠子、村上善基、小宮俊幸、谷川真理、鈴木和男、藤田哲也「健常人と各種疾患患者の末梢血のセンダイウイルス刺激IFN- $\alpha$ 産生能とプラズマサイトイド樹状細胞数との相関」第72回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、2007年10月24日、京都
67. 富澤一夫、雑賀寛、大島正道、長尾朋和、楠玲奈、新井孝夫、小林和夫、中山俊憲、田之倉優、鈴木和男「急速進行性糸球体腎炎の15-Deoxyspergualin 治療による自己抗体MPO-ANCA 値とそのリスクエピトープの減少」第18回日本生体防御学会総会：7月26-28日、九大医学部百年講堂、福岡市
68. 鈴木和男「難治性血管炎 MPO-ANCA の発症機序の解析と免疫グロブリン治療法」千葉がんセンター講演会、2007年10月24日、千葉
69. 西尾壽乗、鬼丸満穂、三浦典子、大野尚仁、高橋啓、鈴木和男、原寿郎、居石克夫「抗VEGF-A 抗体、抗TNF $\alpha$ 抗体投与によるマウスCAWS 惹起冠動脈炎の発症抑制効果に関する病理学的検討」、第48回日本脈管学会、2007年10月25-27日、松本
70. 宇野賀津子、武曾恵理、猪原登志子、八木克己、藤田哲也、鈴木和男「MPO-ANCA 腎炎のサイトカイン・ケモカイン動態：Bio-Plex法による網羅的解析」第13回MPO研究会、10月26-27日、広島
71. 富澤一夫、長尾朋和、雑賀寛、大島正道、小林和夫、中山俊憲、鈴木和男「急速進行性糸球体腎炎自然発症 SCG/Kj mouse への15-Deoxyspergualin の投与はMPO-ANCA とそのrisk epitope の減少を引き起こす」第13回MPO研究会、10月26-27日、広島
72. 河内正治、鈴木和男「ARDS 患者における急性期BALF中Cytokines 値測定」第13回MPO研究会、10月26-27日、広島
73. 常賀、鈴木和男、埜晴雄、小玉誠、相澤義房「劇症型心筋炎に対するIL-22-Ig 融合蛋白治療の検討」第13回MPO研究会、10月26-27日、広島
74. HOSHINO Akiyoshi, NAGAO Tomokazu, MIURA Noriko, OHNO Naohito, NAKAYAMA Toshinori, SUZUKI Kazuo「MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils of murine systemic vasculitis」第37回免疫学会、2007年11月20-22日、東京・品川
75. Kazuo Tomizawa, Tomokazu Nagao, Kan Saiga, Masamichi Oshima, Kazuo Kobayashi, Toshinori Nakayama, and Kazuo Suzuki「Decrease of MPO-ANCA involving risk epitopes by treatment with 15-Deoxyspergualin in spontaneous MPO-ANCA-related vasculitis model SCG/Kj mouse」第37回免疫学会、2007年11月20-22日、東京・品川
76. 仲村 究、宮里明子、肖 剛、八田益充、青柳哲史、位田 剣、西城 忍、岩倉洋一郎、竹田 潔、審良静男、鈴木和男、賀来満夫、川上和義「Cryptococcus neoformans 由来DNAによるマウス骨髄由来樹状細胞の活性化機序の解析」第37回免疫学会、2007年11月20-22日、東京・品川
77. 宮里明子、仲村 究、Xiao Gang、鈴木和男、賀来満夫、川上和義「真菌由来DNAによる樹状細胞活性化における細胞内動態の解析：CpG-ODNとの比較検討」第37回免疫学会、2007年11月20-22日、東京・品川
78. 土屋尚之、川崎綾、京極千恵子「全身性エリテマトーデスにおけるinterferon regulatory factor 5 (IRF5)多型の関連(シンポジウム)。2007年日本リウマチ学会総会、2007年4月26~29日、横浜(抄録集p190)。
79. 江原幸和、土屋尚之、松下正毅、長谷川稔、藤本学、徳永勝士、竹原和彦、佐藤伸一：広汎性皮膚硬化型強皮症とIL-10受容体 $\beta$ 鎖多型との関連。2007年日本リウマチ学会総会、2007年4月26~29日、横浜(抄録集p369)。
80. 川崎綾、草生真規雄、深沢徹、橋本博史、高崎芳成、徳永勝士、土屋尚之：日本人集団におけるinterferon regulatory factor 5 (IRF5) 遺伝子多型と全身性エリテマトーデスの関連。2007年日本リウマチ学会総会、2007年4月26~29日、横浜(抄録集p467)。
81. Tsuchiya N, Kuroki K, Hitomi Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Tokunaga K, Tedder TF, Takehara K, Sato S. Role of CD19 and CD22

- polymorphisms in the susceptibility to human systemic sclerosis. Professor E. Carwile LeRoy Memorial International Workshop on Scleroderma, May 18-20, 2007, Tokyo.
82. Ehara Y, Matsushita M, Hasegawa M, Fujimoto M, Miyagi T, Kashiwase K, Oka T, Satake M, Tokunaga K, Takehara K, Sato S, Tsuchiya N. Association of IL10 promoter polymorphism with total skin score in systemic sclerosis. Professor E. Carwile LeRoy Memorial International Workshop on Scleroderma, May 18-20, 2007, Tokyo.
  83. 土屋尚之, 川崎綾, 宮下リサ, 大橋順, 徳永勝士, 草生真規雄, 高崎芳成, 橋本博史, Timothy W. Behrens, 京極千恵子: 日本人における全身性エリテマトーデスと interferon regulatory factor 5 (IRF5) との関連. 日本人類遺伝学会第 52 回大会 2007 年 9 月 12~15 日, 東京。(抄録集 p171)。
  84. 江原幸和, 松下正毅, 長谷川稔, 藤本学, 宮城徹, 柏瀬貢一, 岡孝紀, 佐竹正博, 徳永勝士, 竹原和彦, 佐藤伸一, 土屋尚之: 広汎性皮膚硬化型強皮症と IL-10 受容体b鎖多型との関連. 日本人類遺伝学会第 52 回大会 2007 年 9 月 12~15 日, 東京。(抄録集 p106)。
  85. 古谷武文, 箱田雅之, 土屋尚之, 松本功, 市川奈緒美, 南家由紀, 八子徹, 小橋川剛, 住田孝之, 鎌谷直之, 小竹茂: 早期 RA 患者における抗 CCP 抗体および抗 GPI 抗体と HLA-DRB1 遺伝子型との関連. 日本人類遺伝学会第 52 回大会 2007 年 9 月 12~15 日, 東京。(抄録集 p161)。
  86. 宮下リサ, 土屋尚之, 屋部登志雄, 小林茂人, 橋本博史, 尾崎承一, 徳永勝士: 顕微鏡的多発血管炎 (MPA) の疾患感受性と KIR-HLA 遺伝子多型. 第 16 回日本組織適合性学会, 2007 年 9 月 12 日 京都
  87. Kawasaki A, Kyogoku C, Miyashita R, Ohashi J, Tokunaga K, Kusaoi M, Takasaki Y, Hashimoto H, Behrens TW, Tsuchiya N. A SNP in IRF5 intron 1 defines a protective haplotype against SLE in Japanese. 2007 American College of Rheumatology Annual scientific Meeting, Boston, November 6-11, Boston.
  88. Tsuchiya N, Kawasaki A, Takasaki Y, Hashimoto H, Ohashi J. Total number of risk alleles in four susceptibility genes as a marker for genetic risk to SLE. 2007 American College of Rheumatology Annual scientific Meeting, Boston, November 6-11, Boston.
  89. Furuya T, Matsumoto I, Tsuchiya N, Hakoda M, Ichikawa N, Yago T, Nanke Y, Sumida T, Kamatani N, Kotake S. Anti-glucose-6-phosphate isomerase, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and HLA-DRB1 genotypes in Japanese patients with early rheumatoid arthritis. 2007 American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting, Boston, November 6-11, Boston.
  90. Hitomi Y, Adachi T, Tsuchiya N, Honda Z, Tokunaga K, Tsubata T. The alternative spliced isoform of human CD72 that confer resistant against systemic lupus erythematosus regulate B lymphocyte apoptosis. 2007 年日本免疫学会総会, 東京, 2007 年 11 月 20 日~22 日。
  91. Asahara T. AHA Scientific Sessions 2007 Symposium, "Vascular Progenitor Cells and Cell Growth "Endothelial Progenitor Cells for Ischemic Diseases"
  92. Chen Y, Umeda M, Huang Y, et al. Elevated serum IgG antibody levels to Periodontal pathogens in patients with Buerger disease. The 34th Annual meeting of Japanese society for vascular surgery.. Tokyo, 2006. 5. 11.
  93. Li X, Iwai T, Nakamura H, et al. Interaction of Porphyromonas gingivalis with human platelets and neutrophils: ultrastructural observations. The 52nd Annual congress of the Japan section. Tokyo, 2006. 6. 3
  94. 宮本正章, 高木 元, 太良修平, 他. 膠原病による難治性潰瘍に対する再生医療を応用した集学的治療-血管新生からマゴットセラピーまで- 第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会 横浜 2007. 4 シンポジウム 10 膠原病治療の現状と評価
  95. 宮本正章, 水野博司, 多川政弘, 他 難治性末梢動脈閉塞性疾患 (PAD) に対する総合的治療戦略-血管新生療法からマゴットセラピーまで-第 32 回日本足の外科学会学術集会 長崎 2007. 6 アフタヌーンセミナー (1)
  96. 宮本正章, 安武正弘, 高木 元, 他 血管再生医療を応用した難治性 PAD に対する総合的治療戦略-自己骨髄血管新生療法からマゴットセラピーまで- 第 11 回心筋・血管新生療法研究会 東京 2007. 7
  97. 宮本正章, 水野博司, 多川政弘, 他 重症 PAD に対する総合的治療戦略 -血管新生療法からマゴットセラピーまで- 第 23 回日本医工学治療学会学術大会 シンポジウム末梢動脈疾患 PAD のすべて 集学的治療の実際 大阪 2007. 2
  98. 宮本正章, 水野博司, 多川政弘, 他 重症難治性 PAD に対する総合的治療戦略-血管新生療法からマゴットセラピーまで-第 71 回日本循環器病学会総会学術集会 教育講演 神戸 2007. 3
  99. 相本隆幸, 内田英二, 田尻 孝, 他 生体修

- 復材料を用いた膵消化管吻合術 基礎的研究：再生医療による新しい手技 第19回日本肝胆膵外科学会学術集会 ミニワークショップ 2 移植・再生医療 横浜 2007. 6
100. Nakagawa A, Aoki M, Miyake T, Shiraya S, Nakamura T, Ogihara T, Kimata Y, Morishita R. Improvement of survival of skin flaps by combined gene transfer of hepatocyte growth factor and prostacyclin synthase. American Society of Gene Therapy 10th Annual Meeting 2007年5月30日-6月3日 Seattle USA
  101. Nishikawa T, Nakagami H, Maeda A, Tabata Y, Tamai K, Kaneda Y. Development of high throughput functional screening of cardiovascular therapeutic genes using HVJ-E vector and identification of a novel angiogenic peptide, AG30. American Society of Gene Therapy 10th Annual Meeting. 2007年5月30日-6月3日 Seattle USA
  102. Nakagami H, Nishikawa T, Morishita R, Tabata Y, Tomono K, Ogihara T, Kaneda Y. Functional analysis of novel antimicropeptide, AG(Angiogenic Peptide)-30, with angiogenic property, toward clinical application. 第71回日本循環器学会学術集会 2007年3月15日 神戸
  103. Aoki M, Morishita R. Clinical Trials of Human Gene Therapy for Peripheral Arterial Disease Using Hepatocyte Growth Factor Gene Transfer. 第71回日本循環器学会学術集会 2007年3月17日 神戸
  104. 森下竜一 Clinical Trials of HGF (Hepatocyte Growth Factor) gene therapy in peripheral arterial disease (PAD). 第13回遺伝子治療学会 2007年6月30日 愛知がんセンター
  105. 森下竜一. 遺伝子診療のイノベーション 第14回日本遺伝子診療学会 2007年7月27日 愛媛看護研修センター
  106. 森下竜一. 脈管学におけるトランスレーショナルリサーチ 第48回日本脈管学会総会 2007年10月26日
  107. 中神啓徳 次世代血管新生療法に向けての試み 第48回日本脈管学会総会 2007年10月26日
  108. 川島聡子、大和恒恵、吉原 堅、有村義宏、中林公正、山田 明：下肢浮腫を初発症状とした尿蛋白陰性の MPO-ANCA 関連血管炎の1症例. 第51回日本リウマチ学会総会、横浜、2007. 4. 26~29.
  109. 大和恒恵、有村義宏、軽部美穂、中林公正、山田 明：関節リウマチにおける白血球除去法の有用性についての検討. 第51回日本リウマチ学会総会、横浜、2007. 4. 26~29.
  110. 福岡利仁、大塚貴子、松田拓久、須藤 京、池谷京子、川嶋聡子、小路 仁、早川 哲、軽部美穂、吉原 堅、有村義宏、中林公正、山田 明：インフリキシマブ治療による RA 寛解例と難治例の臨床的検討. 第51回日本リウマチ学会総会、横浜、2007. 4. 26~29.
  111. 池谷京子、福岡利仁、有村義宏、中林公正、山田 明：輪状披裂関節炎により上気道閉塞をきたした関節リウマチの一例. 第51回日本リウマチ学会総会、横浜、2007. 4. 26~29.
  112. 軽部美穂、有村義宏、須藤 京、中林公正、山田 明：MPO-ANCA 関連血管炎における血液異常一特に骨髓異形成症候群の合併について. 第50回日本腎臓学会学術総会. 横浜、2007. 5. 25~27.
  113. 副島昭典\*、青木優子\*、鈴木祥史\*、大塚貴子、福岡利仁、中林公正、山田 明 (\*：保健学部)：肝型脂肪酸結合蛋白(L-FABP)は低分子量蛋白と類似した尿中への排泄態度を示す. 第50回日本腎臓学会学術総会. 横浜、2007. 5. 25~27.
  114. 吉原 堅、有村義宏、軽部美穂、大和恒恵、中林公正、山田 明：MPO-ANCA 関連血管炎の寛解維持療法一免疫抑制療法中止例の解析一. 第50回日本腎臓学会学術総会. 横浜、2007. 5. 25~27.
  115. 川嶋聡子、有村義宏、副島昭典、中林公正、山田 明、塩田奈津子、磯部充久、横川彰朋、粕谷泰次：尿中遊離型 cortisone/cortisol 比を指標とした腎疾患患者における 11- $\beta$  HSD2 活性評価. 第50回日本腎臓学会学術総会. 横浜、2007. 5. 25~27.
  116. 有村義宏、吉原 堅、中林公正、山田 明：ANCA 関連腎炎の治療一寛解維持療法、再燃時の治療を中心に一. 第50回日本腎臓学会学術総会. 横浜、2007. 5. 25~27.
  117. 小路 仁、中林公正、軽部美穂、有村義宏、川嶋聡子、山田 明、藤岡保範：MPO-ANCA 関連血管炎の腎間質に於ける毛細血管炎について病理組織学的研究：免疫組織化学染色による腎間質の毛細血管炎について. 第11回腎間質障害研究会、東京、2007. 9. 15.
  118. 須藤 京、福岡利仁、大塚貴子、遠藤哲也、有村義宏、要 伸也、中林公正、山田 明：リウマチ症状が先行した抗 GBM 抗体腎炎の1例. 第37回日本腎臓学会東部学術大会、大宮、2007. 10. 5~6.
  119. 軽部美穂、斉藤督芸、小路 仁、要 伸也、有村義宏、中林公正、山田 明：クローン病による小腸切除後に高尿酸血症を来し、著名な間質性腎炎にて透析導入となった1例. 第37回日本腎臓学会東部学術大会、大宮、2007. 10. 5~6.
  120. 小路 仁、斉藤督芸、大和恒恵、軽部美穂、中林公正、山田 明：ヒトパルボウイルス19感染後に血管極部に著名な炎症性細胞浸潤を伴った管内増殖性腎炎の1症例. 第37回日本腎臓学会東部学術大会、大宮、2007. 10. 5~6.

121. Nakabayashi K, Fukuoka K, Arimura Y, Yamada A, Fujioka Y: Different clinical and pathological disease subsets in patients with rapidly progressive glomerulonephritis associated with pulmonary hemorrhage. 2007 Am Soc of Nephrol meeting, San Francisco, 2007 11.2 ~5.
122. S Kobayashi, T Ito-Ihara, K Suzuki, S Fujimoto, RA Watts, DG Scott, DJ Jayne, H Hashimoto and the Japan-UK AAV Study Group. Incidence of ANCA-associated vasculitis in Japan. A preliminary report from Japan-UK collaboration study.
123. Takashi Yoshimasu, Nobuo Kanazawa, Fukumi Furukawa : Expression of histamine receptors on lupus skin lesions, The 68th Annual Meeting of Society for Investigative Dermatology, May 9 to 12, 2007, Los Angeles, California
124. Fukumi Furukawa, Nobuo Kanazawa, Takashi Yoshimasu : The expression of histamine receptors in skin lesions of MRL/MP-lpr/lpr mice, The 8th International Congress on SLE, May 23 to 27, 2007, Shanghai
125. 中村智之、金澤伸雄、山本有紀、古川福実 : 皮膚型結節性多発動脈炎の疾患概念および独立性に関する検討。第30回皮膚脈管膠原病研究会、2007.1.25-26.、横浜
126. 木村文子、上出康二、中 啓吾、古川福実 : 顕微鏡的多発血管炎の一例。第30回皮膚脈管膠原病研究会、2007.1.25-26、横浜
127. 吉益 隆、金澤伸雄、古川福実 : ループスの皮疹部と各種ヒスタミンレセプターの発現との関与。第32回日本研究皮膚科学会学術大会・総会、2007.4.18-20、横浜
128. 池田高治、湯川尚一郎、吉藤 元、野島崇樹、大村浩一郎、臼井 崇、藤井隆夫、三森経世 : エタネルセプト投与中に白血球除去療法を併用し有効であった関節リウマチの2例。第51回日本リウマチ学会総会・学術集会 第16回国際リウマチシンポジウム、2007.4.26-29. 横浜
129. 湯川尚一郎、藤井隆夫、中嶋 蘭、伊藤能永、池田高治、吉藤 元、野島崇樹、大村浩一郎、臼井 崇、三森経世 : TNF阻害療法中にSLE様免疫異常を認めた関節リウマチの5例。第51回日本リウマチ学会総会・学術集会 第16回国際リウマチシンポジウム、2007.4.26-29. 横浜
130. 臼井 崇、小林志緒、橋本美季子、伊藤能永、吉藤 元、池田高治、湯川尚一郎、野島崇樹、大村浩一郎、藤井隆夫、三森経世 : 疾患特異的な免疫制御法の開発の可能性。第51回日本リウマチ学会総会・学術集会 第16回国際リウマチシンポジウム、2007.4.26-29. 横浜
131. 中村智之、金澤伸雄、山本有紀、古川福実 : 皮膚型結節性多発動脈炎の疾患概念および診断基準に関する検討。第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、2007.6.10-12、横浜
132. 湯村和子, 代田さつき, 杉浦秀和, 武井卓, 内田啓子, 新田孝作 : 抗好中球細胞体抗体(ANCA)関連腎炎における臨床病態と治療。第104回日本内科学会, 日本内科学会誌 96 (臨時増刊) : 208, 2007
133. Yumura Wako : Contribution of CD69 in MPO-associated glomerulonephritis in mice. 13th International vasculitis & ANCA workshop : 2007, Mexico
134. 吉田雅治 第50回アメリカ腎臓学会年次集会(平成19年11月1日~6日 : サンフランシスコ、米国)
135. Ozaki S., Yamada H., Nagafuchi H., Ooka S., Maeda A., and Itoh H. : Rituximab treatment in patients with Wegener's granulomatosis resistant to or intolerant of cyclophosphamide. The Second East Asian Group of Rheumatology Meeting. 2007. 5.
136. H.Yamada. : Rituximab for the treatment of Japanese patients with refractory ANCA-associated vasculitis: International Symposium on Primary Systemic Vasculitides. 2007. 9, Tokyo.
137. 島田恵子、大岡正道、伊東 宏、小俣正美、北薮貴子、前田聡彦、柴田朋彦、山田秀裕、尾崎承一 : Wegener 肉芽腫による眼窩内肉芽腫に対して rituximab にて治療後再発した1例。第22回日本臨床リウマチ学会。2007.11.30-12.1. 鹿児島県民交流センター

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1.特許取得

1. 特許出願 2007-253402、出願日 : 2007.9.28 発明者 : 尾崎承一、石津明洋、外丸詩野、吉木敬、村井太一 発明の名称 : 「自己免疫疾患の被験者に対する治療効果の予測方法」(申請中)
2. 2007 特許出願, 商標登録出願「マゴットバッグ」宮本正章
3. 特願 2007-280969 : 「MPO-ANCA 親和性検出方法」吉田雅治 (申請中)

##### 2.実用新案登録

なし

##### 3.その他

なし

# 〔Ⅲ〕

分科会報告  
分担研究報告

# 【病理・基礎研究分科会】



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

病理・基礎研究分科会報告書

血管炎の発症、進展に係わるゲノム・遺伝子・タンパク質に関する研究 2007

分科会長	能勢真人	愛媛大学大学院医学系研究科ゲノム病理学分野	教授
	石津明洋	北海道大学医学部保健学科病理形態機能学分野	教授
	加藤智啓	聖マリアンナ医科大学化学	教授
	居石克夫	九州大学大学院医学研究院病理病態学	教授
	鈴木和男	千葉大学大学院医学研究院免疫発生学・炎症制御学	教授
	土屋尚之	筑波大学大学院人間総合科学研究科社会健康医学分野	教授
研究協力者	高橋 啓	東邦大学医学部附属大橋病院病理学	教授
	吉木 敬	株ジェネティックラボ	取締役会長

研究要旨

2005-2007 年度 3 年間の活動計画、①モデル動物による血管炎の病理発生の解析、②血管炎の発現遺伝子の網羅的解析、③血管炎感受性遺伝子のゲノム解析、④新たな自己抗体、自己抗原の探索、⑤候補遺伝子のタンパク質合成、⑥臨床研究への展開、の 6 項目において、具体的な遺伝子、分子の同定とその機能の解析と、班全体での横断的研究を推進した。今年度は、①においては、1) 血管炎惹起性ラット T 細胞クローンの血管内皮細胞対応抗原の解析、2) 可溶性 Tie-2 の産生機構と Ang-1/Tie-2 シグナルの制御機構の解析、3) CAWS 誘発マウス冠動脈炎・大動脈炎マウスモデルにおける抗 VEGF 抗体ならびに抗 TNF- $\alpha$  抗体投与による病変制御効果、4) 血管炎モデルマウスの MPO-ANCA とその risk epitope の動態、5) 血管炎モデルマウス由来動脈平滑筋細胞株の樹立とトランスクリプトーム解析、②では、ANCA 関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトミクスによる増悪と抑制にそれぞれ係わる新規血管炎関連遺伝子の同定、③では、MPA 患者における *IRF5* を含む type I IFN パスウェイ遺伝子の SNPs による関連解析、④では、1) ヒト血管炎での抗血管内皮細胞自己抗体のプロテオミクスによる新規自己抗原の解析、2) 無細胞タンパク質合成系と AlphaScreen 法を組み合わせた high through-put な自己抗体検出法による血管炎関連抗原の網羅的探索、⑤では、1) 無細胞系合成タンパク質をリアクタントとする自己抗体の ELISA 法の確立、2) 血管炎で発現する抗内皮細胞抗体の対応抗原の無細胞系タンパク質合成、⑥では、血管炎患者末梢血中の病態関連ペプチドの検索、において新たな成果を得た。

A. 研究目的

当分科会は、2005-2007 年度 3 年間の活

動計画、①モデル動物による血管炎の病理発生の解析、②血管炎の発現遺伝子の網羅的解析、③血管炎感受性遺伝子のゲ

ノム解析、④新たな自己抗体、自己抗原の探索、⑤候補遺伝子のタンパク質合成、⑥臨床研究への展開、の6項目において、具体的な遺伝子、分子の同定とその機能の解析と、班全体での横断的研究を推進した。これらの中で、班横断的プロジェクト(\*印)を含め、今年度遂行した成果の概要を下記にまとめた。詳細は、各分担研究者、研究協力者報告の項に記載した。

#### B. 研究方法

各分担者報告の項参照

(倫理面への配慮)

各分担者報告の項参照

#### C. 研究結果

##### 1. モデル動物による血管炎の病理発生の解析：

###### 1) 血管炎惹起性ラット T 細胞クローンの血管内皮細胞対応抗原の解析 (石津、吉木、他)

血管炎を発症する env-pX ラットより、血管内皮細胞 (EC) 依存的に増殖亢進を示すオリゴクローナルな Th1 タイプの CD4 陽性 T 細胞クローン PC4 を得、これを同系ラットに静注することにより肺に血管炎が誘導された。この PC4 は EC の共培養下で PC4 自身が抗原提示細胞として働いていた。さらに、EC から抽出した蛋白を HPLC により分画し、PC4 に添加してクラスター形成の有無を観察したところ、ペプチドサイズの分画に対して反応が認められ、血管炎の標的分子を明ら

かにすることができると考えられた。

###### 2) 可溶性 Tie-2 の産生機構と Ang-1/Tie-2 シグナルの制御機構の解析 (居石、他)

新生血管の成熟ならびにその維持には、Ang-1/Tie-2 の細胞間連関、また内皮細胞内シグナル伝達 Tie-2/PI3 kinase 活性化/MAPK 抑制経路が関与している。一方、可溶性 Tie-2 (sTie-2) の生物学的、病態学的意義は不明である。そこで培養各種ヒト内皮細胞とヒト pCDNA-Tie-2 遺伝子導入 COS7 を用いて以下の結果を得た。

1) 両細胞とも内因性 sTie-2 を産生、放出し、2) その産生、放出は、ADAMs 阻害剤や TIMP-3 にて抑制され、3) PMA、TNF $\gamma$  にて亢進した。更に、4) Ang-1/Tie-2 依存性 MAPK 活性化は抑制された。以上より、sTie-2 は ADAMs や MT-MMPs により膜型受容体である Tie-2 の細胞外領域が離断・放出され、血管再生ならびに新生血管の成熟・安定化に関与する事が明らかとなった。

###### 3) CAWS 誘発マウス冠動脈炎・大動脈炎マウスモデルにおける抗 VEGF 抗体ならびに抗 TNF- $\alpha$ 抗体投与による病変制御効果 (居石、他)

本モデルの血管炎発症機序について、抗 VEGF-A ならびに TNF $\alpha$  抗体を用いて血管炎の発生頻度、局所炎症・障害ならびに内膜肥厚の程度を形態学的に解析し、以下の結果を得た。1) 上記の形態学的項目をスコア化することは、血管炎の治

療効果判定に有用であり、さらに、両抗体の腹腔内持続投与により、2) 血管炎の発生頻度、また3) 炎症ならびに内臓肥厚のいずれも有意に抑制された(抗 VEGF 抗体:  $P=0.018$ 、抗 TNF $\gamma$  抗体:  $P=0.005$ )。従って、特に抗 TNF $\gamma$  抗体は川崎病治療法の一つなりうることが示唆された。

#### 4) 血管炎モデルマウスの MPO-ANCA とその risk epitope の動態: 急速進行性腎炎自然発症 SCG/Kj マウスの解析から (鈴木、高橋、他)

MPO-ANCA 関連血管炎のモデル動物である SCG/Kj マウスは、急速進行性糸球体腎炎(RPGN)を自然発症しするが、その病態と MPO-ANCA の risk epitope との関連を解析した。MPO fragments の H 鎖中央部 (H-6) に対応する部分と強く反応することが確認された risk epitope である H-6 は、RPGN の病態と相関し、さらに、H-6 に反応する MPO-ANCA の IgG subclass は IgG2b を示した。一方、SCG/Kj マウス血清のサイトカインレベルは、IL-12p40, IL-13 (Th2 type cytokine) が高値を示し、IL-12p70 (Th1 type cytokine) の変動は弱かった。これらの結果から、SCG/Kj マウスの MPO-ANCA に関連した病態には、MPO-ANCA の risk epitope H-6 (IgG2b subclass, Th2 type IgG) が主に関与することと、Th2 type cytokine 濃度が高値へシフトすることによっていることが示唆された。

#### 5) 血管炎モデルマウス由来動脈平滑筋細胞株の樹立とトランスクリプトーム解析 (能勢、他)

大動脈炎を含め、全身性に肉芽腫性血管炎を自然発症する MRL/gld マウスに、不死遺伝子 SV40T-Ag をコンジェニックに導入したマウス MRL/gld-TAg を樹立し、この大動脈から中膜平滑筋細胞培養株を樹立した。この平滑筋細胞に IFN $\gamma$  を作用させたところ、IP-10、MCP-1、RANTES、eotaxin などのケモカインの発現が認められ、これらは血管炎の発症に促進的に作用していると考えられた。

## 2. 血管炎の発現遺伝子の網羅的解析:

#### ANCA 関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトミクスによる増悪と抑制にそれぞれ係わる新規血管炎関連遺伝子の同定\* (石津、吉木、他)

MPO-ANCA 関連血管炎患者の治療前、および治療開始後 1 週間の末梢血を用いて Gene Chip によるトランスクリプトーム解析を行い、治療後に寛解または軽快した症例において、治療後に発現が低下する 59 遺伝子、および治療後に発現が増強する 15 遺伝子を抽出した。発現が低下する 59 遺伝子には、Charcot-Leyden crystal protein など、MPO-ANCA 関連血管炎の病態の増悪に関与する可能性がある遺伝子が含まれていた。一方、発現が増強する 15 遺伝子には、ADAM 28 など、

MPO-ANCA 関連血管炎の病態の抑制に関与する可能性がある遺伝子が含まれていた。これら 74 遺伝子のうち、有意性の高い 44 遺伝子を用いて Low Density Array (LDA) を作製したが、この LDA は Gene Chip の結果をよく再現した。今後、この LDA を用いて、治療前、および治療開始後 1 週間の末梢血遺伝子発現をプロファイリングすることにより、治療後にサイトメガロウイルス感染等の合併症を呈する症例を予測できる可能性が示唆された。

### 3. 血管炎感受性遺伝子のゲノム解析：

MPA 患者における *IRF5* を含む type I IFN パスウェイ遺伝子の SNPs による関連解析\* (土屋、他)

SLE において確立した疾患感受性遺伝子で、最近、ヨーロッパ系集団における Wegener 肉芽腫症(WG)との関連が報告された *IRF5* 遺伝子から、連鎖不平衡を考慮して 6 個所の SNP を選択し、日本人血管炎患者 75 例 (うち顕微鏡的多発血管炎 [MPA] 49 例、WG 8 例、Churg-Strauss 症候群 [CSS] 9 例、古典的結節性多発動脈炎 6 例) および健常対照群 201 例による関連解析を施行した。患者群全体においては、*IRF5* 遺伝子の 3'側約 5kb 下流に位置する SNP (rs2280714) の G/G 遺伝子型頻度が減少していた (患者群 0.147, 対照群 0.259,  $P=0.049$ )。この関連は、MPA 群単独では有意差に到達せず、WG 群および CSS 群における A/A 遺伝子型頻度の増加傾向

(WG 0.375, CSS 0.444, 対照群 0.299) に由来する可能性が高いと考えられた。A アリルでは *IRF5* mRNA レベルの増加が報告されていることから、ヨーロッパ系集団における報告同様、WG における *IRF5* の役割を支持するものと考えられた。また、より網羅的に type I IFN パスウェイの関連解析を施行する目的で、type I IFN 系 55 遺伝子から連鎖不平衡を考慮して 384 SNP を選択し、カスタムアレイの作成を完了した。

### 4. 新たな自己抗体、自己抗原の探索：

1) ヒト血管炎での抗血管内皮細胞自己抗体のプロテオミクスによる新規自己抗原の解析 (加藤)

血管内皮細胞(HUVEC)抽出蛋白質を用いて、2次元電気泳動/ウエスタンブロットおよび質量分析を行い、血管炎で出現する抗内皮細胞抗体の対応抗原の検出と同定を行った。150 個強の自己抗原候補を検出し、現在までに 63 個を同定した。大部分は血管炎での自己抗原として報告のないものであった。現在 20 個強について組換え蛋白質を作成し、自己抗原性の確認各種血管炎における出現頻度を検討した。

2) 無細胞タンパク質合成系と AlphaScreen 法を組み合わせた high through-put な自己抗体検出法による血管炎関連抗原の網羅的探索 (能勢、他)

昨年度に無細胞タンパク質合成系と

AlphaScreen 法とを組合わせた新規自己抗体の探索法を確立したが、本法は、定量性に問題が残されているが、高感度で、しかも多種類のタンパク質を対象に、一度に、かつ簡便に自己抗体を測定するという利点がある。この方法を用いて、これまでに我々が同定した膠原病関連感受性遺伝子座近傍の蛋白質から 120 個のタンパク質を合成し、血管炎モデルマウスのリコンビナントインブレッッドマウス MXH/lpr の 10 系統の血清を対象とし解析した。その結果、30 個以上の合成タンパク質に対する新規の自己抗体産生が観察され、その中には、血管炎関連自己抗体も含まれていることが明かとなった。

#### 5. 候補遺伝子のタンパク質合成：

##### 1) 無細胞系合成タンパク質をリアクタントとする自己抗体の ELISA 法の確立\* (能勢、他)

無細胞タンパク質合成系で合成した GST タグをつけた融合タンパク質を用いた capture ELISA system を確立を試みた。この方法では、多種類のタンパク質を一度に合成できる無細胞タンパク質合成系を利用して合成したタンパク質を、精製せずに crude な状態で ELISA の抗原に供することができる。そこで、そのモデルとして、GST-Tag 融合合成タンパク質を RF リアクタントとした capture ELISA system を樹立した。この系では、従来の recombinant Fc を抗原としてもちいた血清 IgG-RF および血清 IgM-RF との間で測

定結果に大きな差は認められず、このシステムは、今後、新たなタンパク質に対する自己抗体を簡便かつ迅速に定量する上で非常に有用な方法であると考えられる。

##### 2) 血管炎で発現する抗内皮細胞抗体の対応抗原の無細胞系タンパク質合成\* (加藤、能勢、他)

4.-1) のプロジェクトから明らかになった、血管炎で出現する抗内皮細胞抗体の対応抗原について無細胞系タンパク質合成を行い、ELISA 法による自己抗体の定量実験に供した。

#### 6. 臨床研究への展開：

##### 血管炎患者末梢血中の病態関連ペプチドの検索 (加藤)

血管炎の病因病態に関連し、診断的意義を持つペプチドを患者末梢血より探索した。質量  $5 \times 10^3$  ダルトン以下のペプチドに焦点を当て、疎水性担体結合ビーズを用いてペプチドを回収し、MALDI-TOF 型質量分析器でそれらペプチドピークの質量を検出した。健常人と比べ MPA で特異的に出現するペプチドを複数検出した。

#### D. 考察

当分科会は、班長より、当分科会の活動方針として提示された、1) 血管炎モデル動物の解析とヒト血管炎への提言、2) 血管炎におけるゲノミクス、プロテ

オミクス研究、3) 血管炎原因遺伝子の同定と応用、に沿って、前述の6つの計画を遂行した。その中で、病態の現象論から帰納法的に、その原因遺伝子、分子の同定を目的とした。

まず、血管炎モデル動物では、ヒト血管炎の発症機序を理解する上でのいくつかの新たな概念が提唱された。そのひとつは、壊死性血管炎を発症する env-pX ラットモデルにおいて示されたように、抗原提示能を有する特定の Th1 クローンが血管内皮細胞抗原に应答し血管障害を誘導する可能性である。一方、川崎病モデルである CAWS 誘発マウスからは、その発症に VEGF や TNF $\gamma$  の重要性がそれぞれの特異抗体を用いた治療実験により示されるに至った。MPO-ANCA 関連血管炎モデルである SCG/Kj マウスでは、MPO の特定のエピトープと反応する自己抗体の存在が急速進行性糸球体腎炎と相関したことから、ANCA の血管炎リスクエピトープが *in vivo* において実証された。また、血管炎モデルである MRL/gld マウスから樹立された動脈中膜平滑筋細胞培養株を用いた実験においては、血管炎のプロgresションに中膜平滑筋細胞自身が産生するケモカインの重要性が示された。これらはいずれも、今後のヒト PN や、川崎病、ANCA 関連血管炎の解析、治療へのアプローチに重要な概念を提供している。

ついで、ゲノミクス、プロテオミクスからのアプローチにおいては、日本人 WG、CSS 患者における *IRF5* 遺伝子の SNP が、

また、MPO-ANCA 関連血管炎の病態と関連する遺伝子が新たに同定された。一方、血管炎患者の血中に存在する特定の小ペプチドの存在が明らかにされ、今後、これらの病理発生における役割の解明が期待される。

また、血管炎関連自己抗体の探索では、ヒト MPA に発現する抗血管内皮細胞抗体のプロテオミクス解析で、新たな対応抗原分子が同定された。モデルマウスからのアプローチにおいても、膠原病モデルマウスから樹立したリコンビナントインブレッド系 MXH/lpr を利用して、血管炎発症に関連する新たな自己抗体が、新たに開発されたスクリーニング法により同定された。さらにこれらの定量的に解析する方法として、新たな capture ELISA システムが開発された。

これらの研究は、一貫して血管炎の発症、進展に係わる「ゲノム・遺伝子・タンパク質」に迫るものであり、今後、これらがより一層、血管炎の発症機序の解明と、さらに診断、治療への応用に展開されることが期待される。

#### E. 研究発表

1. 論文発表  
各分担者報告の項参照

2. 学会発表  
各分担者報告の項参照

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

各分担者報告の項参照  
1. 特許取得

各分担者報告の項参照

2. 実用新案登録

各分担者報告の項参照

3. その他

各分担者報告の項参照

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

自己血管内皮細胞反応性ラット T 細胞の解析と MPO-ANCA 関連血管炎患者の末梢血  
トランスクリプトームに関する研究

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

研究要旨

血管炎を発症する env-pX ラットから血管内皮細胞（EC）に反応する T 細胞株 PC4 を樹立した。PC4 はオリゴクローナルな Th1 タイプの CD4 T 細胞であった。EC と共培養することによる PC4 の増殖は MHC クラス II に対する抗体により完全に阻害された。しかしながら、この共培養系において EC は MHC クラス II を発現しておらず、抗原提示細胞として機能しているのは PC4 自身であることが明らかとなった。EC から抽出した蛋白を HPLC により分画し、PC4 に添加してクラスター形成の有無を観察したところ、ペプチドサイズの分画に対して反応が認められた。PC4 の認識抗原を解析することにより、血管炎の標的分子を明らかにすることができると考えられる。

MPO-ANCA 関連血管炎 20 症例について、治療前および治療開始後 1 週間での末梢血における遺伝子発現を Gene chip を用いて網羅的に解析した。治療後に寛解または軽快した 13 例では、Charcot-Leyden crystal protein をはじめとする 59 遺伝子が治療後に有意に発現低下を示し、また ADAM28 ほか 15 遺伝子が発現増強を示した。次に、上記検討において有意性の高かった 44 遺伝子を選定し、Low Density Array (LDA) を作製した。治療後の予後を把握できた 24 症例について解析を行ったところ、LDA は Gene chip の結果を良く再現した。また、サイトメガロウイルス（CMV）感染症を合併した 2 例では、合併症のなかった症例で認められる特徴的な遺伝子発現パターンが見られず、LDA を用いて治療前および治療開始後 1 週間の末梢血遺伝子発現をプロファイリングすることにより、治療後に CMV 感染等の合併症を呈する症例を予測できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

env-pX ラットでは、骨髄由来の T 前駆細胞が導入遺伝子を発現する胸腺で分化成熟する過程において何らかのセレクション異常が生じ、自己免疫性血管炎が発症すると考えられる。本研究では、env-pX ラットから血管炎惹起性 T 細胞を抽出し、その認識分子を解析することにより、血管炎の標的分子を明らかにする。

また、MPO-ANCA 関連血管炎の病態に関連する遺伝子を探索するため、患者末梢血を用いて網羅的遺伝子発現解析を実施した。

B. 研究方法

env-pX ラットより血管内皮細胞（EC）に反応する T 細胞株 PC4 を樹立した。PC4 と EC の共培養系に MHC クラス II に対す

る抗体を添加し、PC4 の増殖性を検討した。また、PC4 が抗原提示細胞としての機能を持つかどうか、フローサイトメトリや食能試験を行って検討した。さらに、EC から抽出した蛋白を HPLC により分画し、PC4 に添加してクラスター形成の有無を観察し、EC のどの分画に PC4 の認識分子が含まれるかを検討した。

MPO-ANCA 関連血管炎 20 症例の治療前および治療後 1 週間の末梢血をサンプルとし、Affimetrix 社 Gene chip を用いて網羅的な遺伝子発現解析を行った。治療後の予後を調査し、治療後に寛解または軽快が得られた 13 症例について、治療前後での遺伝子発現の変動を解析した。また、上記検討において有意性の高かった 44 遺伝子を選定し、Low Density Array (LDA) を作製して同様の解析を行った。



(倫理面への配慮)

動物実験については北海道大学の動物実験指針に基づいて行った。

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

### C. 研究結果

EC と共培養することによる PC4 の増殖は MHC クラス II に対する抗体により完全に阻害された。しかしながら、この共培養系において EC は MHC クラス II を発現していなかった。一方、PC4 には MHC クラス II や CD80 の発現が認められ、また、貪食能も確認された。EC から抽出した蛋白を HPLC により分画し、PC4 に添加してクラスター形成の有無を観察したところ、ペプチドサイズの分画に対して反応が認められた。対照として用いた線維芽細胞から抽出した蛋白の同サイズの分画には反応は認めなかった。

MPO-ANCA 関連血管炎 20 症例のうち、治療後に寛解または軽快した 13 例について末梢血における遺伝子発現を検討したところ、Charcot-Leyden crystal protein をはじめとする 59 遺伝子が治療後に有意に発現低下を示し、また ADAM28 ほか 15 遺伝子が発現増強を示した。次に、上記検討において有意性の高かった 44 遺伝子を選定し、Low Density Array (LDA) を作製して同様の検討を行った。治療後の予後を把握できた 24 症例について解析を行ったところ、LDA は Gene chip の結果を良く再現した。また、サイトメガロウイルス (CMV) 感染症を合併した 2 例では、合併症のなかった症例で認められる特徴的な遺伝子発現パターンが見られなかった。

### D. 考察

PC4 と EC の共培養系において抗原提示細胞として機能しているのは PC4 自身であると考えられた。EC から抽出した蛋

白を HPLC により分画し、PC4 に添加してクラスター形成の有無を観察することにより、PC4 の認識分子を明らかにすることができると考えられる。

MPO-ANCA 関連血管炎末梢血トランスクリプトーム解析では、治療後に寛解または軽快が得られた症例において、治療後に発現が減少した遺伝子群には cell-cell signaling や host-pathogen interaction に関わる遺伝子が、また増加した遺伝子群には defense immunity protein activity や host-pathogen interaction に関わる遺伝子が多く含まれていた。これらの結果は今回作製した LDA においても良く再現されており、LDA を用いて治療前および治療開始後 1 週間の末梢血遺伝子発現をプロファイリングすることにより、MPO-ANCA 関連血管炎の治療反応性や予後を予測することが可能になると考えられた。

### E. 結論

- 1) 血管炎を発症する env-pX ラットから、自己血管内皮細胞に反応する T 細胞株 PC4 を樹立した。PC4 の認識抗原を解析することにより、血管炎の標的分子を明らかにすることができると考えられる。
- 2) MPO-ANCA 関連血管炎患者の末梢血トランスクリプトーム解析を行い、MPO-ANCA 関連血管炎の治療反応性や予後に関連する遺伝子群を明らかにした。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Baba T, Iwasaki S, Maruoka T, Suzuki A, Tomaru U, Ikeda H, Yoshiki T, Kasahara M, Ishizu A. Rat CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> macrophages kill tumor cells through an NKG2D- and granzyme/perforin-dependent mechanism. J Immunol (in press)
- 2) Chen J, Zhao X, Lai Y, Suzuki A, Tomaru U, Ishizu A, Takada A, Ikeda H, Kasahara M, Yoshiki T. Enhanced production of p24

- Gag protein in HIV-1-infected rat cells fused with uninfected human cells. *Exp Mol Pathol* 83(1): 125-130, 2007.
- 3) 馬場智久, 石津明洋. CD4/CD8 double positive (DP) macrophage の機能. *Annual Review 免疫* 2007 124-131 頁(中外医学社)
- 4) 斉藤真由子, 山本元久, 小原美琴子, 鈴木知佐子, 苗代康可, 山本博幸, 高橋裕樹, 篠村恭久, 石津明洋. 腹部 CT 上の大動脈壁肥厚を契機に診断しえた側頭動脈炎の 1 例. *日本内科学会雑誌* 96 (10): 2276-2278, 2007
2. 学会発表
- 1) 石津明洋, 外丸詩野, 馬場智久, 佐々木直美, 岩崎沙理, 笠原正典, 吉木敬. 自己血管内皮細胞反応性ラット T 細胞の解析. 第 96 回日本病理学会総会, 大阪 2007
- 2) 馬場智久, 岩崎沙理, 石津明洋, 鈴木昭, 外丸詩野, 池田 仁, 吉木 敬, 笠原正典. CD4/CD8 double positive マクロファージによる抗腫瘍メカニズムの解明. 第 96 回日本病理学会総会, 大阪 2007
- 3) 桂田武彦, 外丸詩野, 古川 滋, 武田宏司, 田中淳司, 浅香正博, 鈴木 昭, 石津明洋, 笠原正典. 潰瘍性大腸炎における末梢血中 NKG2A 陽性 T 細胞の減少と病態への関与. 第 96 回日本病理学会総会, 大阪 2007
- 4) 古西崇寛, 山田綾子, 富居一範, 鈴木昭, 外丸詩野, 石津明洋, 笠原正典. Micronodular thymoma with lymphoid hyperplasia (MNT) の一例. 第 96 回日本病理学会総会, 大阪 2007
- 5) 石津明洋, 外丸詩野, 岩崎沙理, 笠原正典, 吉木 敬. 自己血管内皮細胞反応性ラット T 細胞の解析. 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会 横浜 2007
- 6) 外丸詩野, 石津明洋, 笠原正典. 潰瘍性大腸炎における末梢血中 NKG2A 陽性 T 細胞の減少と病態への関与. 第 51 回日本リウマチ学会総会・学術集会 横浜 2007
- 7) 石津明洋, 外丸詩野, 村井太一, 西平順, 吉木 敬, 尾崎承一. MPO-ANCA 関連血管炎患者末梢血のトランスクリプトーム解析. 第 12 回血管病理研究会, 岩手 2007
- 8) 外丸詩野, 武田広子, 小川弥生, 堀田哲也, 深谷進司, 橋本陶子, 富居一範, 笠原正典, 石津明洋. リツキシマブ投与後に日和見感染症を併発して死亡した顕微鏡的多発血管炎の一部検例. 第 12 回血管病理研究会, 岩手 2007
- 9) Ishizu A, Baba T, Iwasaki S, Tomaru U, Kasahara M, Yoshiki T. CD4+/CD8+ macrophages kill tumor cells through an NKG2D- and granzyme/perforin-dependent mechanism. 第 66 回日本癌学会学術総会 横浜 2007
- 10) Ishizu A, Tomaru U, Baba T, Iwasaki S, Sasaki N, Kasahara M, Yoshiki T. Rat T-cells autoreactive with vascular endothelial cells. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007
- 11) Iwasaki S, Baba T, Tomaru U, Kasahara M, Ishizu A. CD4+/CD8+ macrophages kill tumor cells through an NKG2D- and granzyme/perforin-dependent mechanism. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007
- 12) Tomaru U, Ishizu A, Miyatake Y, Murata S, Tanaka K, Kajikawa M. Expression of thymoproteasomes and its essential role

in T cell development. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007

- 13) Katsurada T, Tomaru U, Ishizu A, Kasahara M. Decrease of NKG2A+ T cell in peripheral blood in ulcerative colitis. 日本免疫学会総会・学術集会, 東京 2007

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許出願 (2007-253402)

発明者：石津明洋、外丸詩野、村井太一、吉木 敬、尾崎承一

「自己免疫疾患、特に血管炎症候群の治療に対する反応性を予測する遺伝子診断法」

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

## プロテオミクス/ペプチドミクスを用いた血管炎関連蛋白質同定と解析

分担研究者 加藤智啓 聖マリアンナ医科大学 大学院 医学研究科  
疾患プロテオーム・分子病態治療学 教授

### 研究要旨

血管炎の病態解明と早期診断法確立に有用な血中ペプチドを検索するため、血清中の小ペプチドを、疎水性担体を用いて濃縮精製し、MALDI-TOF型質量分析により、検出比較する手法を確立した。この手法を用いて、MPO-ANCA関連血管炎患者血清中には治療により量的変化を示すペプチド群が存在し、かつ、末梢神経障害と腎障害など特定の症状と相関のあるペプチドが存在することを見出した。これらのペプチドは、血管炎の病因関連分子として、診断あるいは治療モニタリングなど臨床経過把握分子として有用である可能性があり、MPO-ANCA関連血管炎をはじめとする血管炎の克服に貢献しうる。

### A. 研究目的

本研究は血清中の小ペプチドを検索同定する手法を確立し、難治性血管炎の病態解明と早期診断に有用なペプチドを得ることを目的とする。

顕微鏡的多発動脈炎・結節性多発動脈炎など血管炎症を主体とする一群の疾患（いわゆる血管炎症候群）は、一般に難治性かつ予後不良であり、病因解明が社会的要請である。発症機序としては自己免疫機序の関与が考えられているが、その詳細は不明である。こうした病因不明の疾患の解明を目指した研究においては、これまでの報告を基礎にして病態的役割や診断的意義をもつ可能性のある分子を検討していく方法、すなわち、候補分子アプローチだけでなく、特定の分子を設定せずに疾患関連分子を検索していく仮説フリーの網羅的スクリーニングも必要である。こうした網羅的スクリーニングには、遺伝子レベル、mRNA レベル、蛋白質レベルなどさまざまなレベルでの解析が可能である。

本研究では蛋白質が分解されてできる小ペプチドを対象に網羅的スクリーニングを試みた。すなわち、その網羅的検索法として、対象を分子量が 10kD程度以下のペプチドに限定し、血清中に存在する血管炎特異的ペプチドを検索する手法である。分子量 10kD程度以下のペプチドは、これまでの蛋白質解析手法では、分子量が小さすぎて探索の対象にならなかった分子群である。我々は

疎水性担体を用いてそれらペプチドを濃縮精製、MALDI-TOF型質量分析によるペプチドの直接的検出を行うことでこの難点を克服した。膠原病患者血清を用いた検討で疾患特異的なペプチドの検出と同定が可能であることが判明した。さらに、MPO-ANCA関連血管炎患者血清を用いた検索においても健康人に比べ、高濃度に存在するペプチドや治療により変化するペプチド群を検出した。

### B. 研究方法

治療前のMPO-ANCA関連血管炎患者血の血清 5 $\mu$ l から疎水性担体であるMB-C18を使用し、小ペプチドを吸着させ、洗浄後、アセトニトリルを用いて抽出した。これをマトリックスと混合し、MALDI-TOF型質量分析器を用いて、その試料中に含まれるペプチドの検出と質量の測定を同時に行った。同様に治療後1週間、あるいは治療後6週間の同患者血清についても、同様に小ペプチドを分離精製し、質量分析に供した。質量測定により検出されたペプチドピークを、ブルカー社製ClinProtプログラムを用いてコンピュータ解析し、各群に特異的なペプチドピークを抽出した。さらに治療前血清ペプチドについて臨床症状との相関を検討した。

### C. 研究結果

MPO-ANCA関連血管炎患者血清中には複数のペプチドピークが検出された。治療前後の比較では、ペプチド量を示すイオン