

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

# 自己免疫疾患に関する調査研究

平成 17 年度～19 年度 総合研究報告書

主任研究者 山 本 一 彦

平成 20 年 3 月

## 目 次

I. 総括総合研究報告書 -----	1
自己免疫疾患に関する調査研究 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 主任研究者 山本 一彦	
II. 総合研究報告	
自己免疫疾患における抗原提示細胞および T 細胞の役割と新規治療法の開発に関する研究 ---	13
東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 山本 一彦	
抗プロトロンビン自己抗体の血栓原性に関する研究 -----	16
北海道大学大学院医学研究科・病態内科学講座 渥美 達也	
SAP 遺伝子多型と SLE 発症の関連についての研究 -----	20
東北大学大学院医学系研究科病理形態学分野 小野 栄夫	
抗 DNA 抗体の産生機序および組織障害機序に関する研究 -----	22
東北大学大学院医学系研究科（平成 18 年途中～平成 19 年）平林 泰彦 東北大学大学院医学系研究科（平成 17 年～18 年途中まで）佐々木 毅	
脂質関連物質の免疫抑制作用と IL-33/ST2L 分子に関する研究 -----	30
自治医科大学内科学講座アレルギー膠原病学講座 岡崎 仁昭	
Laser-microdissection(LMD)法を用いたループス腎炎浸潤 T 細胞の解析に関する研究 -----	33
筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床免疫学 伊藤 聡	
全身性エリテマトーデスおよびその他膠原病における Th17 の関与に関する研究 -----	39
埼玉医科大学リウマチ膠原病科 三村 俊英	
SLE T 細胞に発現される病態関連分子の探索と新治療法の開発に関する研究 -----	43
埼玉医科大学総合医療センターリウマチ・膠原病内科 竹内 勤	

ループス腎炎の治療：標準化に関する研究	-----	51
国立国際医療センター 第一病棟 三森 明夫		
筋炎特異自己抗体の臨床および免疫遺伝学的特徴に関する研究筋炎	-----	61
慶應義塾大学医学部内科 平形 道人		
多発性筋炎・皮膚筋炎に合併する間質性肺炎に対するタクロリムスの有用性の検討	-----	66
東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科 高田 和生		
全身性エリテマトーデスモデルマウスにおけるFcレセプターと		
単球由来樹状細胞に関する研究	-----	81
順天堂大学医学部膠原病・リウマチ内科 天野 浩文		
SLEにおける免疫担当細胞の異常活性化に係わる遺伝要因の解明と治療への応用	-----	84
順天堂大学医学部分子病態病理学 広瀬 幸子		
複合遺伝性疾患としての自己免疫疾患とその基礎となる		
自己免疫現象の遺伝因子解析の理論研究とその実践的活用	-----	89
東京大学医科学研究所附属ヒトゲノム解析センターゲノム機能解析分野 山田 亮		
新しい治療薬の開発	-----	93
財団法人 乙卯研究所 首藤 絃一		
免疫寛容に重要な分子に関する研究	-----	96
国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部 三宅 幸子		
自己免疫疾患関連血中ペプチドの同定システムに関する研究	-----	103
聖マリアンナ医科大学疾患プロテオーム・分子病態治療学 加藤 智啓		
サイトカインシグナルの抑制と自己免疫疾患の治療に関する研究	-----	107
大阪大学大学院生命機能研究科免疫制御学講座 西本 憲弘		

CD20 抗体を用いた全身性エリテマトーデス治療の開発に関する研究 ----- 111

産業医科大学医学部第一内科学講座 田中 良哉

RNA スプライシング異常による SLE 発症機序の解明と新規治療法の開発 ----- 116

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座 江口 勝美

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 123

# I. 総括総合研究報告

## 自己免疫疾患に関する調査研究

主任研究者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 教授

**研究要旨** 全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE)、多発性筋炎・皮膚筋炎 (polymyositis/dermatomyositis, PM/DM)、シェーグレン症候群 (Sjogren's syndrome, SS)、成人スティル病 (adult onset Still disease, AOSD) などの自己免疫疾患に対して、過去3年間の調査研究を行った。共同研究事業として、SLE のゲノムの解析の為にサンプル収集を集中的に行い、また臨床的研究として SLE の予後因子や活動性指標の検討を、さらに新規治療法の導入のための臨床試験の推進を行った。個別研究としては、病態解明、先端的治療法の開発などを目的として、マウスモデルやヒトの検体を用いた研究を推進した。

### 分担研究者

渥美 達也 北海道大学大学院医学研究科・病態内科学講座・第二内科

能勢 真人 (平成17年～18年)  
愛媛大学大学院医学系研究科ゲノム病理学分野

小野 栄夫 (平成19年)  
東北大学大学院医学系研究科病理形態学分野

佐々木 毅 (平成17年～18年途中まで)  
東北大学大学院医学系研究科

平林 泰彦 (平成18年途中～平成19年)  
東北大学大学院医学系研究科

簗田 清次 (平成17年～18年)  
自治医科大学アレルギー-膠原病学講座

岡崎 仁昭 (平成19年)  
自治医科大学アレルギー-膠原病学講座

伊藤 聡 筑波大学大学院人間総合科学研究科臨床免疫学

三村 俊英 埼玉医科大学リウマチ膠原病科

竹内 勤 埼玉医科大学総合医療センターリウマチ・膠原病内科

三森 明夫 国立国際医療センター第一病棟

平形 道人 慶應義塾大学医学部内科

高田 和生 東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科

深沢 徹 (平成17年)

天堂大学医学部膠原病リウマチ内科

天野 浩文 (平成18年～19年)

天堂大学医学部膠原病リウマチ内科

広瀬 幸子 順天堂大学医学部分子病態病理学

山田 亮 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターゲノム機能解析分野

首藤 紘一 財団法人乙卯研究所

三宅 幸子 国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部

加藤 智啓 聖マリアンナ医科大学疾患プロテオーム・分子病態治療学

西本 憲弘 大阪大学大学院生命機能研究科免疫抑制学講座

田中 良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座

江口 勝美 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座 (第一内科)

### A. 研究目的

全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE)、多発性筋炎・皮膚筋炎 (polymyositis/dermatomyositis, PM/DM)、シェーグレン症候群 (Sjogren's syndrome, SS)、成人スティル病 (adult onset Still disease, AOSD) などの自己免疫疾患に対して、共同研究事業とし

て、ゲノムの解析の為のサンプル収集、SLE の適正治療方針の検討、新規治療法の導入のための臨床治験の推進を行い、個別研究として病態解明、先端的治療法の開発などの研究を推進することを目的とした。

ゲノム解析に関しては SLE の DNA サンプル収集を当面の班共通の目的とした（山本および臨床系分担研究者）。また、ゲノムワイド関連解析を行うための解析手法・ツールを開発を目的として研究を進めた（山田）。

病因、病態解析の為のモデルマウスを対象とした研究では、疾患モデル実験から治療標的細胞・分子を明らかにし、実際にヒト病態への関与を検討し、さらに、疾患モデルでの治療実験を通して新規治療法の可能性を示すこと（小野）、SLE における免疫担当細胞の異常活性化に係わる遺伝要因の解明（広瀬）、単球・樹状細胞の役割と病態形成との関与（天野）、免疫寛容維持に重要な分子機序を解明（三宅）などを目的とした。

SLE を対象とした研究では、抗リン脂質抗体症候群でみられる抗プロトロンビン自己抗体の血栓原性の解析（渥美）、ヌクレオソームの対する T 細胞受容体とそれを抗原提示するマクロファージの相互作用の解析（山本）、SLE における組織障害性抗 DNA 抗体の産生機序の解明（平林）、ループス腎炎のサイトカインバランスの解析（伊藤）、新規ヘルパー T 細胞 Th17 の解析（三村）、早期診断に有用な血中ペプチドの検出同定（加藤）などを目的として研究を進めた。SLE とスプライシングの関係では、TCR と鎖の蛋白発現が低下するので、その mRNA のスプライス・バリエーションの生成機序を解明すると共に、どのような機構を介して病態形成に結びついているのかを明らかにすること（竹内）、SLE 患者リンパ球の RNA スプライシング異常の解析や、RNA スプライシングから見た健常人リンパ球の活性化機序の検討、さらにミゾリビン（MZR）を用いた免疫抑制治療による RNA スプライシング変化の検討（江口）などが研究目的となった。

SLE の臨床的研究の目的として、SLE の予後・活動性評価法と適正治療法の決定（三森）がある。

SLE 以外の疾患では、筋炎特異自己抗体の免疫学的性状や臨床的意義を明らかにすることを目的とした（平形）。

治療に関しての目的としては、スタチン類と新しい免疫抑制薬 FTY720 の自己免疫疾患への臨床応用（岡崎）、レチノイドの自己免疫疾患の治療への応用（首藤）、PM/DM に合併する間質性肺炎（interstitial pneumonia: IP）に対するタクロリムスの有効性及び安全性の検討（高田）、SLE 患者の IL-6 阻害治療とサイトカインネットワークの解析（西本）、治療抵抗性の SLE に対する治療の開発を目的として、B 細胞を標的とした CD20 抗体の臨床試験を実践し、有効性と安全性を確認（田中）などがある。

## B. 研究方法

ゲノム解析の為の SLE の DNA サンプル収集は、本研究組織参加の臨床系の分担研究者全員が、それぞれ学内の倫理委員会に申請後、インフォームドコンセントを取得し、収集を開始した。また、シミュレーションデータを用いて、大規模データ処理フロー上の問題点を明らかにし、解決手法の効果を判定した（山田）。

モデルマウスを用いた研究では、MRL/lpr に種々の SLAM ファミリー受容体の可溶化受容体を発現導入し、自己抗体産生、自己免疫病態に対する抑制効果を検証（小野）、QTL 法による原因遺伝子解析をゲノムワイドで行った（広瀬）。BXSb マウス末梢血単球を培養した樹状細胞への分化成熟の解析（天野）、定量的蛋白質発現差異解析法による GRAIL 基質分子の探索、GRAIL 遺伝子欠損マウスの作製（三宅）などがある。

SLE を対象とした研究では、モノクローナル抗プロトロンビン抗体を用いたトロンビン生成や向血栓細胞への影響の解析（渥美）、マクロファージの選択的除去による免疫応答と臓器障害の制御（山本）、SLE 患者由来モノクローナル抗 DNA 抗体に結合する蛋白の同定（平林）、ヒトループス腎炎における糸球体、間質の浸潤 T 細胞の単細胞レベルの解析（伊藤）、患者末梢血単核球を用いた T 細胞刺激下での IL-17 mRNA や蛋白の測定（三村）

、血清中の分子量 5000 以下のペプチドを対象とした、疎水性担体、金属キレート用担体、陽/陰イオン担体等を用いた小ペプチドの分離精製と MALDI-TOF 型質量分析での網羅的解析（加藤）などがある。スプライシングに関しては、TCR $\zeta$  鎖スプライス・バリエーション遺伝子導入 T 細胞株の樹立（竹内）、活動性あるいは非活動性の SLE 患者リンパ球の caspase-8 のスプライス・バリエーション発現を解析（江口）などがある。

SLE の臨床的解析では、施設病歴調査、患者団体アンケート調査によるデータベースの作成と、治療効果と病態発生の時系列の統計解析（三森）があり、SLE 以外の疾患研究では、筋炎特異自己抗体の免疫沈降法による検索とその臨床的意義の解析（平形）がある。

治療に関しては、スタチン類と FTY720 の *in vitro* での培養滑膜細胞へのアポトーシス誘導作用の有無の細胞内シグナル伝達系を含めた検討（岡崎）、タミバロテンの製造と供給および自己免疫疾患モデルの治療（首藤）、PN/DM 患者に対するタクロリムス使用例の後ろ向き解析と効能追加申請のためのデータ取得を目的とした GCP 準拠施設治験（高田）、難治性 SLE 患者に対するトシリズマブによる探索的治療と DNA チップ解析（西本）、中～重度の flare SLE 患者 15 例を対象とした CD20 抗体リツキシマブの臨床第 I / II 相試験（田中）などがある。

#### （倫理面への配慮）

ヒトゲノムの収集ならびに情報の提供およびヒト末梢血の解析については、各施設の倫理委員会の承諾を得、臨床検体はインフォームドコンセントのもとに収集され、個人情報漏洩のないよう管理された。個人情報を伝達しないレトロスペクティブ観察研究やアンケート調査は、連結不能・完全匿名法とした。治験計画においては GCP 準拠とし、被験者への不利益を最小限にとどめ、被験者の得る利益を最大限にするよう配慮した。動物実験に際しては、各施設の倫理委員会により承認された実験計画書に基づいて実験を行った。

## C. 研究結果

ゲノム解析の為の SLE の DNA サンプル収集は、本研究組織参加の臨床系の分担研究者全員が、それぞれ学内の倫理委員会に申請後、インフォームドコンセントを取得しつつ収集を開始し、現在までに約 450 サンプルの収集が終わっている（山本および臨床系分担研究者）。解析については、マーカー数 100 万以上、サンプル数 2 万以上の SNP ジェノタイプデータにつき、個別 SNP 関連検定に関して考察し、それを実装した java ツールを完成した（山田）。また、候補遺伝子解析として、SAP 遺伝子のイントロン多型が、若年齢群において SLE 発症に関連することを明らかとした（小野）。

モデルマウスを用いた解析では、新規樹状細胞抑制化合物（NK026680）のマウスループス腎炎モデルにおける腎炎発症抑制効果を示し（小野）、IL-4 受容体遺伝子多型が SLE 発症に関わる可能性を得（広瀬）、BXSb マウス末梢血単球には 2 つの異なる成熟段階の単球分画が存在し、Gr1-の分画が増殖し、樹状細胞へ分化することが病態形成につながる可能性を見いだした（天野）。また、アナジ状態で特異的に発現が低下する蛋白を約 30 同定し、GRAIL 遺伝子欠損マウス作製した（三宅）。

SLE を対象とした研究では、抗プロトンピン抗体は、直接プロトンピン生成を亢進させ、向血栓細胞を活性させることを明らかとし（渥美）、脾臓マクロファージを除去することで、マウスのレベルでは腎炎が抑制されることを示し（山本）、小胞体膜蛋白 Herp は抗原性を持ち抗 DNA 抗体産生を誘導することを見いだした（平林）。III 型主体のループス腎炎の T 細胞は Th1, 2, 17 細胞として機能しているが、III 型の間質、IV 型主体腎炎の糸球体、間質には Th1 細胞は認められず、Th2, 17 細胞として機能していることが判明し（伊藤）、患者末梢血を用いて、Th1/Th2/Th17 サブセットを求めることが出来た（三村）。また、SLE 特異的血中小ペプチド候補と考えられるペプチドを 7 つ検出した（加藤）。スプライシングに関しては、SLE 患者 T 細胞に発現される TCR $\zeta$  mRNA スプライスバリエーションを遺伝子導入し mRNA 不安定性によって TCR $\zeta$  蛋白が発現低下、IL-2 産生が低下したこと



を確認した。さらに、2種類のバリエント遺伝子導入株に共通して発現誘導あるいは低下する遺伝子を cDNA チップによって網羅的に検索したところ、Syndecan-1,  $\beta$ 7-インテグリン、Granzyme-A が発現誘導される事を明らかとした(竹内)。また、活動性のSLEではcaspase-8のスプライス・バリエントの発現が減少しており(RT-PCR)、治療経過に伴って減少していた caspase-8 のバリエント発現が回復することを見いだした(江口)。

SEL の臨床的検討では、ループス腎炎の発生時期が、治療反応性と経過を強く規定し、腎病理所見よりも正確な予後予測を与えるというまったく新しい知見を得た(三森)。一方、PN/DMの解析では、抗SRP抗体の免疫学的多様性、抗EJ抗体の臨床的意義を明らかとした(平形)。

治療に関しては、脂溶性スタチン類とFTY720は共に培養滑膜細胞に対してアポトーシスを誘導し、前者はRho蛋白の活性化障害に、後者はMAPK経路の活性化に基づくことを見出し(岡崎)、T細胞分化においてRARアゴニストが制御性T細胞へと分化させることを明らかとした(首藤)。実際のヒトを対象とした治療では、PM/DMのIPに対する治療について、後ろ向き研究では、タクロリムスは糖質コルチコイドのみで治療が困難な全症例を救命し、病勢の安定化・改善をもたらし、患者負担を軽減した。更に安全性の面でも、重篤感染症は認められず、それ以外の副作用も頻度も低く重篤度も低いものであった。さらに、活動性IPを伴うPM/DM患者を対象とし、タクロリムスと糖質コルチコイドの併用投与群単群による多施設共同オープン試験(パートA)および糖質コルチコイドのみによる初期治療が行われた症例よりなるHistorical control群のデータ抽出(パートB)よりなる第II/III相試験を計画し、医薬品医療機器総合機構との対面助言を経て、全参加施設でのIRB承認の上2007年6月に治験届提出、2007年7月より被験者登録を開始した(高田)。難治性SLE患者に対するトシリズマブによる探索的治療とDNAチップ解析では、TNFとIFNのカスケード異常が示唆され、IL-6阻害治療関連分子を同定した(西本)。SLEに対するリツキシマブ投与では、重

篤な有害事象はなく、24週間観察期間中の有害事象は、3例の感染症の併発であり、有効性評価は、14例中2例がMajor clinical response、7例がPartial clinical responseであった。これらの結果を受けて、次相臨床試験を開始した(田中)。

#### D. 考察

ゲノム解析のためのSLEサンプル収集は一定の成果を挙げつつあるが、世界的には千人規模のサンプルを用いた関連解析が主流になりつつあり、これを目標にさらに努力が必要である。個別研究では多くの成果が出ていると考える。臨床試験については、企業などのバックアップが無いと推進することは難しいことが実感されている。

#### E. 結論

難治性疾患の代表であるSLEなどの自己免疫疾患について、基礎的、臨床的研究を推進できた。今後、これらの研究を継続することで、より学術的、国際的、社会的に意義のある成果を達成できると考える。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

山本 一彦(主任研究者)

- Yamamoto, K, Yamada, R. Lessons from a Genomewide Association Study of Rheumatoid Arthritis. N Engl J Med 357: 1250-1251, 2007.
- Yamada, R. & Yamamoto, K. Mechanisms of disease: genetics of rheumatoid arthritis--ethnic differences in disease-associated genes. Nat Clin Pract Rheumatol 3: 644-50, 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, Okamura T, Okamoto A, Yamamoto K. T cell receptor gene therapy for autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1110:222-32, 2007.

• Nakagome K, Dohi M, Okunishi K, Komagata Y, Nagatani K, Nagatani K, Tanaka R, Miyazaki J, Yamamoto K. In vivo IL-10 gene delivery suppresses airway eosinophilia and hyperreactivity by down-regulating APC functions and migration without impairing the antigen-specific systemic immune response in a mouse model of allergic airway inflammation<sup>1</sup>. *J Immunol*. 174:6955-6966, 2005.

• Shiratori I, Yamaguchi M, Suzukawa M, Yamamoto K, Lanier LL, Saito T, Arase H. Down-regulation of basophil function by human CD200 and human herpesvirus-8 CD200. *J Immunol*. 175:4441-4449, 2005.

渥美 達也(分担研究者)

• Atsumi T, Horita T, Minori T, Koike T. Exchange of information in Rheumatology between East and West : From Man'yo-shu to the Future. *Arthritis Rheum*. in press

• Atsumi T. Therapeutic targets for antiphospholipid syndrome. *Blood* 110; 4141, 2007.

• Yasuda S, Atsumi T, Matsuura E, Kaihara K, Yamamoto D, Ichikawa K, Koike T. Significance of valine/leucine<sup>247</sup> polymorphism of  $\beta$ 2-glycoprotein I in antiphospholipid syndrome: increased reactivity of anti- $\beta$ 2-glycoprotein I autoantibodies to the valine<sup>247</sup>  $\beta$ 2-glycoprotein I variant. *Arthritis Rheum* 52; 212-8, 2005

• Bohgaki T, Amasaki Y, Nishimura N, Bohgaki M, Yamashita Y, Nishio M, Sawada K, Jodo S, Atsumi T, Koike T. Upregulated expression of tumour necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme in peripheral monocytes in patients with early systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 64; 1165-73, 2005

• Fukae J, Amasaki Y, Yamashita Y, Bohgaki T,

Yasuda S, Jodo S, Atsumi T, Koike T. Butyrate Suppresses Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) Production by Regulating Specific mRNA Degradation Mediated Through a cis-acting AU-rich Element. *Arthritis Rheum* 52; 2697-707, 2005

小野 栄夫 (分担研究者)

佐々木 毅 (分担研究者)

• Misu N, Zhang MC, Mori S, Miyazaki T, Furukawa H, Sasaki T, Nose M, Ono M. Autosomal loci associated with sex-related difference in the development of autoimmune phenotypes in a lupus model. *Eur J Immunol* 37:2787-96, 2007.

• Zhang MC, Mori S, Date F, Furukawa H, Ono M. A non-MHC locus determines tissue-specificity in the pathogenic process underlying synovial proliferation in a mouse arthropathy model. *Ann Rheum Dis* 66:242-5, 2007.

• Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, Nakano N, Ikeda Y, Sasaki T, Nishioka K, Hara M, Taguchi H, Kimura Y, Kato Y, Asaoku H, Kumagai S, Kodama F, Nakahara H, Hagihara K, Yoshizaki K, Kishimoto T. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. *BLOOD*. 106:2627-2633, 2005

• Munakata Y, Kodera T, Saito T, Sasaki T. Rheumatoid arthritis, type I diabetes, and Graves' disease after acute parvovirus B19 infection. *Lancet*. 366:780, 2005

• Munakata Y, Saito-Ito T, Ishii K.K., Huang J, Kodera T, Ishii T, Hirabayashi Y, Koyanagi Y, Sasaki T. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *BLOOD*. 106(10):3449-3456, 2005

平林 泰彦 (分担研究者)

能勢 真人 (分担研究者)

• Hirabayashi Y, Oka Y, Tada M, Takahashi R, Ishii T. A potential trigger of nephritogenic anti-DNA antibodies in lupus nephritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1108:92-95, 2007.

• Kudoh K, Shibata C, Funayama Y, Fukushima K, Takahashi K, Ogawa H, Sagami Y, Hirabayashi Y, Moriya T, Sasaki I. Gastrojejunostomy and duodenojejunostomy for megaduodenum in systemic sclerosis sine scleroderma: report of a case. *Digestive Diseases and Sciences*. 52: 2257-2260, 2007.

• Komori, H. Furukawa, H. Mori, S. Ito, M R. Terada, M. Zhang, M C. Ishii, N. Sakuma, N. Nose, M. Ono, M.: A signal adaptor SLAM-associated protein regulates spontaneous autoimmunity and Fas-dependent lymphoproliferation in MRL-Faslpr lupus mice. *J Immunol* 176: 395-400, 2006.

• Inoue A, Hasegawa H, Kohno M, Ito MR, Terada M, Imai T, Yoshie O, Nose M, Fujita S.: Antagonist of fractalkine (CX3CL1) ameliorates the initiation and progression of lupus nephritis in MRL/lpr mice. *Arthritis Rheum* 52: 1522-33, 2005.

• Oishi H, Miyazaki T, Mizuki S, Kamogawa J, Lu L-M, Tsubaki T, Arita N, Ono M, Yamamoto H, Nose M.: Accelerating effect of an MRL gene locus on the severity and onset of arthropathy in DBA/1 mice. *Arthritis Rheum* 52: 959-66, 2005.

岡崎 仁昭 (分担研究者)

簗田 清次 (分担研究者)

• Kamata Y, Takahashi Y, Iwamoto M, Matsui K, Murakami T, Muroi K, Ikeda U, Shimada K, Yoshio T, Okazaki H and Minota S. Local implantation of autologous mononuclear cells from bone marrow and peripheral blood for treatment of ischaemic digits in patients with connective tissue diseases. *Rheumatology* 46:882-884, 2007.

• Okamoto H, Iikuni N, Kamitsuji S, Yoshio T, Minota S, Kamatani N. IP-10/MCP-1 ratio in CSF is an useful diagnostic maker of neuropsychiatric lupus patients. *Rheumatol*. 45: 232-234, 2006.

• Nagashima T, Okazaki H, Yudoh K, Matsuno H, Minota S. Apoptosis of rheumatoid synovial cells by statins through the blocking of protein geranylgeranylation: a potential therapeutic approach for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 54: 579-586, 2006.

• Yoshio T, Onda K, Nara H, Minota S. Association of IgG Anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 54: 675-678, 2006.

伊藤 聡 (分担研究者)

• Iwanami K, Matsumoto I, Watanabe Y, Mihara M, Ohsugi Y, Mamura M, Goto D, Ito S, Tsutsumi A, Kishimoto T, 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

• Kohno M, Tsutsumi A, Matsui H, Sugihara M, Suzuki T, Mamura M, Goto D, Matsumoto I, Ito S, Suguro T, Sumida T. Interleukin 17 gene expression in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. in press

• Naito Y, Matsumoto I, Wakamatsu E, Goto D, Ito S, Tsutsumi A, Sumida T. Altered peptide ligands regulate muscarinic acetylcholine receptor reactive T cells of patients with Sjogren's Syndrome. *Ann. Rheum. Dis*. 65:269-271, 2006

• Naito Y, Matsumoto I, Wakamatsu E, Goto D, Sugiyama T, Matsumura R, Ito S, Tsutsumi A, Sumida T. Muscarinic acetylcholine receptor auto antibodies in patients with Sjogren's Syndrome. *Ann Rheum Dis* 64:510-511, 2005

三村 俊英 (分担研究者)

- Yokota, K., Miyoshi, F., Miyazaki, T., Sato, K., Yoshida, Y., Asanuma, Y., Akiyama, Y., and Mimura T.: High Concentration Simvastatin Induces Apoptosis in Fibroblast-Like Synoviocytes from Patients with Rheumatoid Arthritis. *J. Rheumatol.* in press
- Kanda H, Yokota K, Kohno C, Sawada T, Sato K, Yamaguchi M, Komagata Y, Shimada K, Yamamoto K, Mimura T.: Effects of low-dosage simvastatin on rheumatoid arthritis through reduction of Th1/Th2 and CD4/CD8 ratios. *Mod. Rheumatol.* 17:364-8, 2007.
- Sato K, Tateishi S, Kubo K, Mimura T., Yamamoto K, Kanda H. Downregulation of IL-12 and a Novel Negative Feedback System Mediated by CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells *Biochem Biophys Res Commun.* 330; 226-232, 2005
- Satoh, K., Satoh, U., Tateishi, S., Kubo, K., Horikawa, R., Mimura, T., Yamamoto, K., and Kanda, H. Aire downregulates multiple molecules that have contradicting immune-enhancing and immune-suppressive functions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 318, 935-940, 2004

竹内 勤 (分担研究者)

- Tsuzaka K, Matsumoto Y, Sasaki Y, Abe T, Tsubota K, and Takeuchi T. Down-regulation of Fas-ligand mRNA Shogren' syndrome patients with enlarged exocrine glands. *Autoimmunity* 40:497-502, 2007.
- Suzuki K, Takei H, Kameda H, Nagasawa H, Sekiguchi N, Nishi E, Ogawa H, Tsuzaka K, Amano K, Takeuchi T. Efficacy and Safety of Tacrolimus in Patients with rheumatoid arthritis in clinical practice: Significant role of blood concentration measurement for preventing severe adverse events. *Arthritis Rheum.* S 35 CRC03, 2007.
- Tsuzaka K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Shiraishi K, Suzuki K, Abe T, and Takeuchi T. A splice variant of the

TCR $\zeta$  mRNA lacking exon7 leads to the downregulation of the TCR $\zeta$ , TCR/CD3 complex and IL-2 production in systemic lupus erythematosus T cells. *J Immunol* 174:3518-25, 2005.

- Shiraishi K, Tsuzaka K, Abe T, and Takeuchi T. Critical role of the 5<sup>th</sup> domain of E-cadherin for heterophilic adhesion with  $\alpha$ E $\beta$ 7, but not for homophilic adhesion. *J Immunol* 175:1014-1021, 2005.
- Tsuzaka K, Nozaki K, Kumazawa C, Shiraishi K, Setoyama Y, Yoshimoto K, Suzuki K, Abe T, and Takeuchi T. DNA microarray gene expression profile of T cells with splice variants of TCR $\zeta$  mRNA observed in SLE. *J Immunol* 176:949-56, 2006.

三森 明夫 (分担研究者)

- Nagatani K, Itoh K, Nakajima K, Kuroki H, Katsuragawa Y, Mochizuki, M Aotsuka S, Mimori A. Rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes express BCMA and are stimulated by APRIL. *Arthritis Rheum.* 56;3554-3563, 2007.
- Soejima M, Sugiura T, Kawaguchi Y, Kawamoto M, Katsumata Y, Takagi K, Nakajim A, Mitamura T, Mimori A., Hara M, and Kamatani N: Association of the diplotype configuration at the N-acetyltransferase 2 gene with adverse events with co-trioxazole in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 9: R23, 2007.
- Aotsuka S, Okawa-Takatsuji M, Nagatani K, Nagashio C, Kano T, Nakajima K, Ito K, Mimori A. A retrospective study of the fluctuation in serum levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 23(4):475-81, 2005.

平形 道人 (分担研究者)

- Hirakata M., Suwa A, Takada T, Sato S, Nagai S, Genth E, Song YW, Mimori T, Targoff IN. Clinical and immunogenetic features of patients with

autoantibodies to asparaginyl-transfer RNA synthetase. *Arthritis Rheum.* 56:1295-1303, 2007.

• Sato S, Kuwana M, Hirakata M. Clinical characteristics of Japanese patients with anti-OJ (anti-isoleucyl-tRNA synthetase) autoantibodies. *Rheumatology.* 46:842-845, 2007.

• Sato S, Hirakata M, Kuwana M, Suwa A, Inada S, Mimori T, Nishikawa T, Oddis CV, Ikeda Y. Autoantibodies to a 140-kd polypeptide, CADM-140, in Japanese patients with clinically amyopathic dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 52(5):1571-1576, 2005.

• Kaneko Y, Tanaka K, Yoshizawa A, Yasuoka H, Suwa A, Toru Satoh T, Shiro Iwanaga S, Satoshi Ogawa S, Ikeda Y, Hirakata M. Successful treatment of recurrent intracardiac thrombus in Behcet's disease with immunosuppressive therapy. *Clin Exp Rheumatol* 23(6):885-887, 2005

高田 和生 (分担研究者)

• Takada K, J Kishi, N Miyasaka, "Step-up versus primary intensive approach to the treatment of interstitial pneumonia associated with dermatomyositis/polymyositis: a retrospective study". *Mod Rheumatol.* 17: 123-30, 2007.

• Takada K, K. Nagasaka, N. Miyasaka, Polymyositis/Dermatomyositis and interstitial lung disease; A new therapeutic approach with T-cell-specific immunosuppressants. *Autoimmunity*, 38 (5): 383-92, 2005.

天野 浩文 (分担研究者)

• Nakano S, Morimoto S, Suzuki J, Nozawa K, Amano H, Tokano Y, Takasaki Y. Role of pathogenic auto-antibody production by Toll-like receptor 9 of B cells in active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 47:145-9, 2008.

• Morimoto S, Nakano S, Watanabe T, Tamayama Y, Mitsuo A, Nakiri Y, Suzuki J, Nozawa K, Amano H,

Tokano Y, Kobata T, Takasaki Y. Expression of B-cell activating factor of the tumour necrosis factor family (BAFF) in T cells in active systemic lupus erythematosus: the role of BAFF in T cell-dependent B cell pathogenic autoantibody production *Rheumatology.* 46:1083-6, 2007.

広瀬 幸子 (分担研究者)

• Tsukamoto H, Ohtsuji M, Shirowa W, Lin Q, Nakamura K, Tsurui H, Jiang Y, Sudo K, Nishimura H, Shirai T, and Hirose S. Aberrant genetic control of invariant TCR-bearing NKT cell function in New Zealand mouse strains: possible involvement in SLE pathogenesis. *J. Immunol.* 2008, in press.

• Nakamura K, Hirai H, Torashima T, Miyazaki T, Tsurui H, Xiu Y, Ohtsuji M, Qing Shun Lin Q, Tsukamoto K, Nishimura H, Ono M, Watanabe M and Hirose S. CD3 and IgG Fc receptor regulate cerebellar functions. *Mol. Cell. Biol.* 27:5128-5134, 2007.

• Suzuki H, Suzuki Y, Yamanaka T, Hirose S, Nishimura H, Toei J, Horikoshi S, Tomino Y: Genome-wide scan in novel IgA nephropathy model identifies susceptibility locus on murine chromosome 10, in a region syntenic to human IGAN1 on chromosome 6q22-23. *J Am Soc Nephrol*, 16:1289-1299, 2005

• Qi Z, Wang J, Sun Z, Ma F, Zhang Q, Hirose S, Jiang Y: Polymorphism of the mouse gene for the interleukin 10 receptor alpha chain (Il10ra) and its association with the autoimmune phenotype. *Immunogenetics* 57:697-702, 2005.

山田 亮 (分担研究者)

• Yamada R, Matsuda F. A novel method to express SNP-based genetic heterogeneity,  $\Psi$ , and its use to measure linkage disequilibrium for multiple SNPs,  $D_g$ , and to estimate absolute maximum of haplotype frequency. *Genetic /Epidemiology.* 31: 709-726, 2007.

• Ohtsubo S, Iida A, Nitta K, Tanaka T, Yamada R, Ohnishi Y, Maeda S, Tsunoda T, Takei T, Obara W, Akiyama F, Ito K, Honda K, Uchida K, Tsuchiya K, Yumura W, Ujiie T, Nagane Y, Miyano S, Suzuki Y, Narita I, Gejyo F, Fujioka T, Nihei H, Nakamura Y. Association of a single-nucleotide polymorphism in the immunoglobulin  $\mu$ -binding protein 2 gene with immunoglobulin A nephropathy. *J. Hum. Genet.* 50: 30-35, 2005

• Nakayama M, Horiguchi A.S, Kubota K, Takazawa T, Ohsaka M, Kawaida R, Ono M, Kasuya A, Furukawa H, Yamada R, Yamamoto K. Comparison of enzymatic properties between hPADI2 and hPADI4. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 327:192-200, 2005

• Yamada R. Peptidylarginine deiminase type 4, anticitrullinated peptide antibodies, and rheumatoid arthritis. *Autoimmun. Rev.* 4:201-206, 2005

首藤 紘一 (分担研究者)

• Sanda T, Tkuwano T, Nakao T, Iida S, Ishida T, Komatsu H, Shudo K, Kuwano M, Ono M, Ueda R. Antimyeloma effects of a synthetic retinoid Am80 (Tamibarortene) through inhibition of angiogenesis. *Leukemia* (2005) 19, 901-909

• Fujiu K, Manabe I, Ishihara A, Oishi Y, Iwata H, Nishimura G, Shindo T, Maemura K, Kagechika H, Shudo K, Nagai R. Synthetic retinoid Am80 suppresses smooth muscle phenotypic modulation and in-stent neointima formation by inhibiting KLF5. *Circ. Res.* 25;97(11):1132-41, 2005

三宅 幸子 (分担研究者)

• Kaieda S, Tomi C, Oki S, Yamamura T and Miyake S. Activation of iNKT cells by synthetic glycolipid ligands suppresses autoantibody-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 56:18365-45, 2007.

• Sakuishi K, Oki S, Araki M, Porcelli SA, Miyake S,

Yamamura T. Invariant NKT cells biased for IL-5 production act as crucial regulators of inflammation. *J. Immunol.* 179:3452-62, 2007.

• Hashimoto D, Asakura S, Miyake S, Yamamura T, van Kaer L, Liu C, Tanimoto M and Teshima T. Stimulation of host natural killer T cells by synthetic glycolipid regulates acute graft-versus-host disease by inducing Th2 polarization of donor T cells. *J. Immunol.* 174(1): 551-6, 2005

• Yu KO, Im JS, Molano A, Dutronc Y, Illarionov PA, Forestier C, Fjiwara N, Arias I, Miyake S, Yamamura T, Chang YT, Besra GS, and Porcelli SA. Modulation of CD1d-restricted NKT cell responses by using N-acylvariants of  $\alpha$ -galactosylceramides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102(9): 3383-8, 2005

• Ota T, Takeda K, Akiba H, Hayakawa Y, Ogasawara K, Ikarashi Y, Miyake S, Wakasugi H, Yamamura T, Kronenberg M, Raulet DH, Kinoshita K, Yagita H, Smyth MJ, Okumura K. IFN- $\gamma$ -mediated negative feedback regulation of NKT cell function by CD94/NKG2. *Blood*, 106(1): 184-92, 2005

加藤 智啓 (分担研究者)

• Yudoh K., Shishido K., Murayama H., Yano M., Matsubayashi K., Takada H., Nakamura H., Masuko K., Kato T. Water-soluble fullerene (C60) prevents degeneration of articular cartilage in osteoarthritis (OA): C60 downregulates catabolic activity of chondrocytes and inhibits degeneration of articular cartilage during the development of OA. *Arthritis Rheum.* 56:3307-18, 2007.

• Karasawa R, Ozaki S, Nishioka K, Kato T. Autoantibodies to Peroxiredoxin I and IV in patients with systemic autoimmune diseases. *Microbiol. Immunol.* 49(1): 57-65. 2005

• Orita M, Masuko-Hongo K, Yotsuyanagi H, Matsui T, Suzuki-Kurokawa M, Nishioka K, Kato T. Molecular Transplantation: Delivery of membranous proteins

onto live cells. *Anal Biochem.* 340: 184-186. 2005

西本 憲弘 (分担研究者)

• Nishimoto N, Kishimoto T. Humanized Antihuman IL-6 Receptor Antibody, Tocilizumab. In: Chernajovsky Y, Nissim A, eds. *Therapeutic Antibodies. Handbook of Experimental Pharmacology*:Springer-verlag Berlin Heiderberg. 151-160, 2007.

• Nishimoto N, Hashimoto J, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Murata N, van der Heijde D, Kishimoto T. Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor(SAMURAI):evidence of clinical and radiographic benefit from an X ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab. *Ann Rheum Dis.* 66:1162-1167, 2007.

• Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M, Woo P, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T. Therapeutic Efficacy of Humanized Recombinant Anti-IL 6-Receptor Antibody for Children with Systemic-Onset Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis Rheum.* 52: 818-825, 2005.

• Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, Nakano N, Ikeda Y, Sasaki T, Nishioka K, Hara M, Taguchi H, Kimura Y, Kato Y, Asaoku H, Kumagai S, Kodama F, Nakahara H, Hagihara K, Yoshizaki K, Kishimoto T. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman's disease. *Blood* 106:2627-2632, 2005.

• Doganci A, Eigenbrod T, Krug N, De Santis,GT, Hausding M, Erpenbeck VJ, Haddad, E,Bopp T, Kallen KJ, Herz U, Schmitt S, Luft C, Hecht O, Hohlfeld JM, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T, Rose-John S, Renz H, Neurath MF, Galle PR, Finotto S. The IL-6  $\alpha$ chain controls lung CD4+CD25+ Treg development and function during allergic airway

inflammation in vivo. *J. Clin. Invest.* 115: 313-325, 2005.

田中 良哉 (分担研究者)

• 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.* 56:1559-1568, 2007.

• 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.* 179: 6479-84, 2007.

• Tanaka Y, Tokunaga M. Rituximab reduces both quantity and quality of B cells in SLE. *Rheumatology* 45: 122-123, 2006.

• 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* 52, 1676-1683, 2005.

江口 勝美 (分担研究者)

• Kamachi M, Eguchi K et al. Activation of protein phosphatase causes alternative splicing of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): potential effect on immune surveillance. *Biochem Biophys Res Commun.* 360:280-285, 2007.

• Iwanaga N, Kamachi M, Aratake K, Izumi Y, Ida H, Tanaka F, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A, Eguchi K. Regulation of alternative splicing of caspase-2 through an intracellular signaling pathway in response to pro-apoptotic stimuli. *J Lab Clin Med.* 145 :105- 110, 2005.

• Aratake K, Kamachi M, Iwanaga N, Kawasaki E, Izumi Y, Ida H, Tanaka F, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Origuchi T, Kawakami A, Eguchi K. A cross-talk between RNA splicing and signaling pathway alters Fas gene expression at

post-transcriptional level: alternative splicing of Fas mRNA in the leukemic U937 cells. J Lab Clin Med. 146:184-191, 2005.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

###### ・平林 泰彦

モノクロナール抗ヒトホモシステイン誘導小胞体(ER)蛋白 Herp 抗体 (特願 2008-016602)

###### ・三村 俊英

膠原病診断方法 (特願 2007-222082)

###### ・加藤 智啓

名称：強皮症の診断方法、強皮症の診断薬及び強皮症診断マーカー

出願番号：特願 2006-3783

出願日：平成 18 年 1 月 11 日

###### ・田中 良哉

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)

特になし

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし



## II. 総合研究報告

## 自己免疫疾患における抗原提示細胞およびT細胞の役割と新規治療法の開発に関する研究

分担研究者 山本 一彦 東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学 教授

研究協力者 岡本 明子、藤尾 圭志

東京大学大学院医学系研究科アレルギーリウマチ学

**研究要旨** 自己抗原に対する免疫学的寛容の破綻は、自己免疫疾患の病態に密接に関与すると考えられる。しかし、免疫学的寛容の破綻に結びつく自己抗原の提示様式については今までほとんど解析されていない。そこで、全身性エリテマトーデス（SLE）モデルマウスにおいて、重要な自己抗原であるヌクレオソームに特異的なT細胞を高効率レトロウイルスベクターにより再構築し、ヌクレオソームの局在を検討した。ヌクレオソームは脾臓で優位に提示されていた。さらに脾臓抗原提示細胞のうち、F4/80陽性マクロファージとCD11b陽性樹状細胞は腎炎発症前からヌクレオソームを提示していた。F4/80陽性マクロファージは脾臓において最も豊富な抗原提示細胞であった。クロドロネート・リポソーム静注により脾臓貪食細胞を除去すると、脾臓細胞のヌクレオソーム提示は減弱し、抗ヌクレオソーム抗体および蛋白尿発症率も低下したが、全般的な免疫抑制は認めなかった。発症前マウスに脾臓マクロファージを移入すると、血清抗ヌクレオソーム抗体価と蛋白尿発症率が有意に上昇したが、脾臓樹状細胞の移入では有意な上昇を認めなかった。したがって、SLEモデルマウスでは、マクロファージを含む脾臓貪食細胞の核抗原提示が自己抗体産生などの異常な免疫応答、ひいては自己免疫疾患を惹起する可能性が示された。アポトーシス細胞の除去に影響を与えず脾臓貪食細胞の自己抗原提示を抑制できれば、SLEの新規治療法開発への糸口となりうる。

### A. 研究目的

貪食細胞においてアポトーシス細胞断片を除去する機能が低下した場合に、全身性エリテマトーデス（SLE）様の病態を呈することは報告されているが、SLEにおける自己抗原提示能については未だにほとんど解析されていない。全身に発現する自己抗原の提示様式を解析することは、自己抗原に対する免疫学的寛容を破綻させる機序の解明に結びつくため、SLEの病態を理解する上で極めて重要な課題である。そこで我々は病態に即した新規治療法開発を目標とし、SLEモデルマウスであるNZB/W F<sub>1</sub>マウスを用いて重要なSLEの自己抗原であるヌクレオソームの提示について検討を行った。ヌクレオソームは、ヒストンと2本鎖DNAからなるクロマチンの構成単位で、アポトーシスを起こした細胞から放出される。

### B. 研究方法

高効率レトロウイルスベクターシステムを用いて再構築したヌクレオソーム特異的T細胞をNZB/W F<sub>1</sub>マウスに移入して抗原提示の局在を検討した。脾臓における各抗原提示細胞サブセットを分離し、ヌクレオソーム特異的T細胞の増殖を検討した。腎炎発症前からヌクレオソームを提示している脾臓貪食細胞を、クロドロネート・リポソーム静注により生体内で除去し、抗原提示、自己抗体価および蛋白尿発症率を検討した。また、脾臓貪食細胞の除去が抗体を産生する形質細胞に及ぼす影響について検討した。さらに脾臓マクロファージもしくは樹状細胞を発症前マウスに繰り返し移入し、ループス発症が促進されるか検討した。

(倫理面への配慮) 実験動物に対しては過度の苦痛を与えないなど、動物愛護上の十分な配慮を行った。

### C. 研究結果

ヌクレオソーム特異的 T 細胞は腎炎発症前から NZB/W F<sub>1</sub> マウス脾臓で優位に刺激されていた。中でも脾臓の F4/80<sup>+</sup>マクロファージと CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>樹状細胞はヌクレオソーム特異的 T 細胞を強く刺激した。NZB/W F<sub>1</sub> マウスの脾臓において、F4/80<sup>+</sup>マクロファージは最も豊富な抗原提示細胞サブセットであり、高い MHC クラス II 発現レベルを示した。また、生体内でクロドロネート・リポソーム静注により F4/80<sup>+</sup>マクロファージを主とした脾臓貪食細胞を除去したところ、脾臓細胞のヌクレオソーム提示能は減弱し、NZB/W F<sub>1</sub> マウスの血清自己抗体価および蛋白尿発症率も低下した。しかし、クロドロネート・リポソーム静注による全般的な免疫抑制は認めなかった。クロドロネートリポソーム静注マウスは PBS リポソーム静注マウスと比較して脾臓形質細胞が減少していた。さらに、dsDNA 特異的形質細胞は脾臓のみで減少しているのに対し、ヌクレオソーム特異的形質細胞は脾臓および骨髄でも減少しており、自己抗体価の変化を反映していると考えられた。発症前マウスに脾臓マクロファージを移入すると、血清抗ヌクレオソーム抗体価と蛋白尿発症率が有意に上昇したが、脾臓樹状細胞の移入では有意な上昇を認めなかった。

### D. 考察

脾臓貪食細胞における核抗原の提示が異常な免疫応答の引き金となり、自己免疫疾患を惹起する可能性が示された。脾臓の F4/80<sup>+</sup>マクロファージは CD11c<sup>+</sup>樹状細胞の約 4 倍存在し、ヌクレオソーム提示に重要な役割を果たすと考えられた。SLE においてマクロファージは①アポトーシス細胞の除去②自己抗原提示、の 2 つの機能を持ち、これらのバランスが発症に大きく関与すると考えられる。脾臓貪食

細胞による T 細胞への自己抗原提示自体が異常なのか、自己抗原提示に続く T 細胞や B 細胞の活性化が異常なのかという問題に関しては更に検討が必要である。

また、脾臓貪食細胞の除去により抗原特異的形質細胞が減少すること、脾臓貪食細胞が形質細胞の維持にかかわるサイトカインやケモカインを出しうることから、脾臓貪食細胞が形質細胞の維持に直接的もしくは間接的に関与する可能性が示唆された。

### E. 結論

NZB/W F<sub>1</sub> マウスにおいて、脾臓貪食細胞は自己抗原を提示し、自己抗体産生を促すことにより病態形成に関与する。アポトーシス細胞の除去に影響を与えず脾臓貪食細胞の自己抗原提示を抑制できれば、SLE の新たな治療アプローチとなりうる。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

・ 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.

・ Yamamoto K, Okamoto A, Fujio K. Antigen-specific immunotherapy for autoimmune diseases. *Expert Opin. Biol. Ther.* 7:359-67, 2007.

・ Fujio K, Okamura T, Okamoto A, Yamamoto K. T cell receptor gene therapy for autoimmune disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1110:222-32, 2007.

・ Shoda H, Fujio K, Yamaguchi Y, Okamoto A, Sawada T, Kochi Y, Yamamoto K. Interactions between IL-32 and tumor necrosis factor alpha contribute to the exacerbation of immune-inflammatory diseases. *Arthritis*

Res Ther. 8:R166, 2006.

・ 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.* 177:8140-8147, 2006.

・ Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, Harley JB, Shirasawa S, Sawada T, Bae SC, Tokuhira 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.

・ Nakagome K, Dohi M, Okunishi K, Komagata Y, Nagatani K, Nagatani K, Tanaka R, Miyazaki J, Yamamoto K. In vivo IL-10 gene delivery suppresses airway eosinophilia and hyperreactivity by down-regulating APC functions and migration without impairing the antigen-specific systemic immune response in a mouse model of allergic airway inflammation<sup>1</sup>. *J Immunol.* 174:6955-6966, 2005.

・ Shiratori I, Yamaguchi M, Suzukawa M, Yamamoto K, Lanier LL, Saito T, Arase H. Down-regulation of basophil function by human CD200 and human herpesvirus-8 CD200. *J Immunol.* 175:4441-4449, 2005.

・ Nagai T, Arinuma Y, Yanagida T, Yamamoto K, Hirohata S. Anti-ribosomal P protein antibody in human systemic lupus erythematosus up-regulates the expression of proinflammatory cytokines by human peripheral blood monocytes. *Arthritis Rheum.* 52:847-855, 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.

・ Kanda H, Kubo K, Tateishi S, Sato K, Yonezumi A, Yamamoto K, Mimura T. Antiproteinuric effect of ARB

in lupus nephritis patients with persistent proteinuria despite immunosuppressive therapy. *Lupus.* 14:288-292, 2005.

・ Sato K, Tateishi S, Kubo K, Mimura T, Yamamoto K, Kanda H. Downregulation of IL-12 and a novel negative feedback system mediated by CD25+ CD4+ T cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 330:226-232, 2005.

・ Takizawa Y, Sawada T, Suzuki A, Yamada R, Inoue T, Yamamoto K. Peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) identified as a conformation-dependent autoantigen in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol.* 34:212-215, 2005.

・ Okazaki Y, Sawada T, Nagatani K, Komagata Y, Inoue T, Muto S, Itai A, Yamamoto K. Effect of Nuclear Factor- $\kappa$ B Inhibition on Rheumatoid Fibroblast-like Synoviocytes and Collagen Induced Arthritis. *J Rheumatol.* 32:1440-1447, 2005.

## 2. 学会発表

・ Okamoto A, Fujio K, Nico van Rooijen, Keith B. Elkon, Yamamoto K. Splenic macrophages promote responses to nucleosomes in NZB/W F1 mice. *Clinical Immunology,* 123, S81, 2007.

・ Okamoto A, Fujio K, Yamamoto K. Autoantigen-presentation of Phagocytes Leads to Autoantibody production in Lupus-prone mice. *Proceeding of the Japanese Society for Immunology.* 2006; 36, 100.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 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