

2009 34018A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

免疫疾患の病因・病態解析と その制御戦略へのアプローチ

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 住田 孝之

平成22(2010)年3月

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業

免疫疾患の病因・病態解析と その制御戦略へのアプローチ

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 住田 孝之

平成22(2010)年3月

目 次

I	構成員名簿	1
II	平成21年度総括研究報告	3
	研究代表者 筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 住田 孝之	
III	分担研究報告	7
T	細胞分化誘導分子の強発現による自己免疫疾患制御法の開発に関する研究	7
	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 住田 孝之	
	免疫疾患における TH1/TH2 細胞の役割と制御に関する研究	11
	筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻分子発生生物学 高橋 智	
	自己免疫性炎症におけるサイトカインと自然免疫の機能	13
	慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室 小安 重夫	
	新規 TNF α 誘導性蛋白 TIARP/STEAP4 の自己免疫性関節炎における役割に関する研究	16
	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 松本 功	
E3	ユビキチンリガーゼ c-MIR の抗炎症効果による関節炎治療に関する研究	19
	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科膠原病・リウマチ内科学 上阪 等	
	自己免疫疾患における免疫担当細胞のシグナル異常とその制御（自己免疫疾患における RasGRP の発現検討）	22
	北海道大学大学院医学研究科 内科学講座・第二内科 小池 隆夫	

多発性硬化症における Mucosal Associated Invariant T 細胞に関する研究……………26

国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部 山村 隆

新規 IL-10 産生制御性 T 細胞の分化機構に関する研究……………29

東京大学医学部アレルギーリウマチ内科 藤尾 圭志

自己免疫疾患におけるケモカイン・ケモカインレセプターの役割と制御戦略に関する研究
:SLE モデルにおける濾胞性ヘルパーT 細胞の増加と B1 細胞による TFH 様細胞誘導……………31

東京大学医学部分子予防医学教室 石川 昌

SLE における自己抗体産生機構と B 細胞を分子標的とした治療戦略に関する研究……………33

産業医科大学医学部第一内科学講座 田中 良哉

IV 研究成果の刊行に関する一覧表 …………… 37

V 平成 21 年度班会議プログラム …………… 45

VI 研究成果刊行物・別刷 …………… 47

I 平成21年度構成員名簿

免疫疾患の病因・病態解析とその制御戦略へのアプローチに関する研究班

区分	氏名	所属	職名
研究代表者	住田 孝之	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学	教授
研究分担者	小池 隆夫	北海道大学大学院医学研究科内科学講座・第二内科	教授
	山村 隆	国立精神・神経センター神経研究所免疫研究部	部長
	田中 良哉	産業医科大学医学部第一内科学講座	教授
	小安 重夫	慶応義塾大学医学部微生物学・免疫学教室	教授
	高橋 智	筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻分子発生生物学	教授
	石川 昌	東京大学医学部分子予防医学教室	准教授
	上阪 等	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科膠原病・リウマチ内科学	准教授
	松本 功	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学分野	准教授
藤尾 圭志	東京大学医学部アレルギーリウマチ内科	助教	
事務局	辻 奈津子	筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学分野 〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1 TEL 029-853-3221 FAX 029-853-3222 e-mail : riumachi@md.tsukuba.ac.jp	
経理事務 担当者	佐藤 寛子	筑波大学医学系支援室会計係 TEL 029-853-3017 FAX 029-853-6309 e-mail : sato.hiroko.gt@un.tsukuba.ac.jp	

II 平成21年度総括研究報告

平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
総括研究報告書

免疫疾患の病因・病態解析とその制御戦略へのアプローチに関する研究

研究代表者 住田 孝之（筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 教授）

研究要旨

本研究プロジェクトにおいては、免疫疾患とくに自己免疫疾患に焦点を当て、その発症に関わる免疫担当細胞、免疫分子を明らかにし、それらを標的とした疾患特異的な治療法、予防法を開発することを目的とする。具体的な研究テーマは以下のとおりである。

自然免疫系において重要な役割を果たしている樹状細胞(DC)は Toll 様受容体(TLR)により活性化され IL-15 等のサイトカインを産生し免疫系を動かす。DC や DC 制御分子である c-MIR などをターゲットとした治療戦略を開発する（小安、上阪）。CD11b 細胞に発現し関節炎を制御する TIARP 分子や単球に発現する RasGRP4 分子も治療標的とする（松本、小池）。DC などに提示された抗原を認識した T 細胞は活性化され TH1, TH2, TH17 細胞などに分化し様々なサイトカインを産生し、細胞傷害性 T 細胞の誘導も促し、最終的に炎症や臓器破壊にいたる。そこで、T 細胞活性化の初期段階において抗原認識を抗原特異的に制御する戦略(住田)、TH1 および TH2 細胞を標的とした治療戦略（住田）、TH17 細胞の制御戦略の開発（高橋）をめざす。免疫応答をネガティブに調節している新規調節性 T 細胞(CD4+CD25-LAG3+Treg 細胞)による制御法（藤尾）、調節機能を有する NKT 細胞（TCRVa7.2-Ja33+MAIT 細胞）を標的とした治療戦略（山村）の開発を進める。Treg 細胞-TFH 細胞-B1 細胞の相互作用阻害による治療戦略（石川）、自己抗体産生機構の解析と B 細胞および細胞内チロシンキナーゼ(Syk)を標的とした新規治療法の開発も進めている（田中）。

研究分担者

小池隆夫 北海道大学大学院医学研究科
教授
山村 隆 国立精神・神経センター神経研究所
部長
田中良哉 産業医科大学医学部第一内科学講座
教授
小安重夫 慶応義塾大学医学部 免疫学
教授
高橋 智 筑波大学大学院人間総合科学研究科
教授
石川 昌 東京大学大学院医学系研究科
准教授
上阪 等 東京医科歯科大学大学院医歯学総合
研究科 准教授
松本 功 筑波大学大学院人間総合科学研究科
准教授
藤尾圭志 東京大学医学部アレルギーリウマチ内科
助教

A. 研究目的

難治性疾患に制定されている疾患の多くは自己免疫疾患である。しかし、その発症の分子機構はいまだ明らかにされておらず、疾患特異的な治療法は開発されていない。現在の治療の主体は、副腎皮質ホルモンや免疫抑制剤などの非特異的な治療であり、感染症など種々の副作用が認められ、患者の QOL 低下の一因になっている。本研究では、自然免疫系および獲得免疫系において重要な役割を果たしている免疫担当細胞、免疫分子の機能を分子レベルで明らかにし、免疫疾患の発症機構を明らかにする。さらに、それらの細胞や分子をターゲットとした抜本的な治療・予防戦略を開発することを目的とする。厚生労働省の免疫アレルギー疾患対策として、病因解明、発症機序に基づく疾患特異的な治療の開発は急務であり、本研究による新しい予防、治療法による患者の QOL 改善が期待される。

具体的には、1) 自己抗原の T 細胞エピトープ解析、アナログペプチドを用いた自己反応性 T 細胞の抗原特異的な制御法の開発（住田）、2) TH1 細胞、TH2 細胞、TH17 細胞の役割を T-bet, GATA3, ROR γ t トランスジェニックマウスを用いて解明し新規治療法開発を目指す（高橋、住田）、3) 抗原提示細胞と

して重要な樹状細胞(DC)に焦点をあて、Toll様受容体(TLR)を介したシグナル、IL-15の制御を中心に遺伝子改変マウスやコラーゲンタイプII(CII)誘導関節炎(CIA)モデルマウスを用いて自己免疫寛容破綻機序を解明する(小安)、4)CD11b細胞に発現するTNF- α 誘導蛋白TIARPによる関節炎制御法の開発(松本)、5)DCからのサイトカイン産生を調整するE3ユビキチンリガーゼc-MIRを分子標的とした治療法の開発(上阪)、6)単球系細胞に発現するRasGRP4分子による自己免疫疾患制御法の開発(小池)、7)新規NKT細胞(MAIT細胞)の機能解析とNKT細胞を介した治療法の開発(山村)、8)IL-10を産生する新規Treg細胞(CD4+CD25-LAG3+Treg)に注目し免疫疾患発症機構の解明(藤尾)、9)Treg細胞-TFH細胞-B1細胞の相互作用解析およびケモカイン・ケモカインレセプター阻害による治療戦略開発(石川)、10)自己抗体産生機序の解析とB細胞表面分子(CD20)およびB細胞内チロシンキナーゼ(Syk)を標的とした新規治療法の臨床応用(田中)。

本研究の独創的な点は、新しく発見された重要な免疫担当細胞、免疫分子の視点から免疫疾患の発症機構を分子レベルで解析し、それらを標的とした新規治療・予防戦略を開発する点にある。国内・国外の研究においても極めてユニークな研究プロジェクトといえよう。

B. 研究方法

1. (住田) 1)自己免疫性関節炎モデルマウス(CIA, GPI誘導関節炎)において、*in vivo*において関節炎を予防あるいは治療できる自己抗原(CII, GPI)のアナログペプチドを選定した。2)T-betを過剰発現したトランスジェニックマウスにおいてCIAの発症について検討した。さらに、関節炎抑制の分子機構についてCII反応性T細胞、抗CII抗体、Th17細胞分化などについて解析した。3)ROR γ tを過剰発現するトランスジェニックマウスにおいて、自己免疫性唾液腺炎の発症について検討した。

2. (高橋)既に確立されたT-betを過剰発現する(TH1優位)マウス、GATA-3を過剰発現する(TH2優位)マウス、ROR γ tを過剰発現する(TH17優位)マウスにて、様々な免疫疾患モデルを誘導し、疾患発症の経過を観察した。ROR γ tトランスジェニックマウスにおいては、B6バックグラウンドおよびBalb/cバックグラウンドのマウスにおいて自己免疫応答発症に関して比較検討した。

3. (小安) 1)CIA誘導プロトコールにおいて、1度目のCII免疫を樹状細胞(DC)移植に変更してCIA発症を検討した。2)TLRの刺激により、DC上の抗原提示関連分子の発現を検討した。3)予めヘルパーT細胞

を樹状細胞によって*in vitro*で刺激しておくことによりCIAの発症率や重症度に影響を及ぼすか否かについて検討した。

4. (松本) 1)TNF- α で誘導される新たな制御分子TIARP(ヒトSTEAP4のホモログ)に関して、GPI誘導関節炎モデルマウスにおける発現細胞に関して検討した。2)STEAP4のRA滑膜における発現細胞について解析した。3)STEAP4を過剰発現したトランスフェクタントあるいはsiRNAを導入してSTEAP4発現を抑制したトランスフェクタントを作製し、IL-6産生について解析した。

5. (上阪) 1)CIAマウス関節由来滑膜線維芽細胞(FLS)に、組換えc-MIRアデノウイルスを感染させ、TNF- α やIL-1 β 刺激によるIL-6産生を検討した。2)c-MIRトランスジェニックマウス(TG)および正常マウス(WT)由来骨髄マクロファージ(BMM)において、IFN- γ で発現誘導した後LPS刺激で誘導されるIL-6などのサイトカイン産生を測定した。3)c-MIRTGおよびWTマウス由来の骨髄樹状細胞(BMDC)によるサイトカイン産生を検討した。

6. (小池) 1)健常人末梢血におけるRasGRP4発現細胞を解析した。2)RA患者末梢血におけるRasGRP4蛋白発現を検討した。3)RA患者滑膜におけるRasGRP4発現細胞を解析した。4)RA患者PBMCにおけるRasGRP4mRNAの量的、質的検討を行なった。

7. (山村) 1)26名のMS患者を対象として末梢血中のMAIT細胞の頻度をTCRV α 7.2+CD161^{high}の α β T細胞と定義してフローサイトメトリー法で解析した。2)NAIT細胞とTCRV α 24+NKT細胞、NK細胞との関連性を検討した。3)MAIT細胞のサイトカイン産生について検討した。

8. (藤尾) 1)OT-II TGおよびTEaTCR TGにおいてCD4+CD25-LAG3+Treg細胞数を検討した。2)腸炎を自然発症するTEaマウスに対してCD4+CD25-LAG3+Treg細胞を細胞移入して腸炎抑制効果を検討した。3)上記トランスジェニックマウスにおいて内因性TCR発現細胞の割合を検討した。

9. (石川)SLEのモデルであるBWF1マウスを用いて、1)TFH細胞におけるICOS、CD69、MHCクラスIIなどの発現および抗体産生に対する影響を検討した。2)B1細胞で活性化されるTFH細胞上のケモカイン受容体などを解析した。3)B1細胞とTreg細胞の相互作用について検討した。

10. (田中) 1)抗CD20抗体療法により変動する細胞、特にナイーブB細胞、メモリーB細胞、メモリーT細胞に焦点をあてフローサイトメトリー法により量的解析を行った。2)B細胞シグナル分子であるSykやJakによるB細胞の活性化、抗体産生に対する影響を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトの検体を用いる研究に関しては、各施設における倫理委員会での承諾を得た上で、患者および健康者に十分なインフォームド・コンセントを行い、理解と同意を得る。動物実験においては、過度の苦痛や恐怖を与えないように配慮する。遺伝子改変マウスを用いた実験では、当該施設の組換え DNA 実験および動物実験の学内規定を遵守して行う。

C. 研究結果

- 1) 住田：1) CIA マウスおよび GPI 誘導関節炎マウスにおいて、関節炎を治療、予防するアナログペプチドを選定した。2) T-bet トランスジェニックマウスにおいて、CIA が完全に抑制された。その機序として、CII 反応性 T 細胞の機能異常、T 細胞分化異常、T-bet 発現による Th17 細胞分化抑制が示唆された。3) ROR γ t トランスジェニックマウスにおいて、唾液腺炎の発症が認められた。唾液腺炎の発症に M3R に対する自己反応性 T 細胞および抗 M3R 抗体が関わっていることを明らかにした。
- 2) 高橋：ROR γ t トランスジェニックマウスにおいて、IL-17 および IL-22 の増加、Balb/c バックグラウンドにおいて形質細胞増加を認めた。
- 3) 小安：1) DC 移入プロトコールによっても通常の CII 2 回免疫法と同等の CIA 発症を確認した。2) TLR 刺激により抗原提示関連分子発現が上昇した。3) DC によるヘルパー T 細胞活性化により CIA の重症度が増加した。以上より、一次免疫応答における抗原提示の強さが CIA 病態形成に重要であることが示唆された。
- 4) 松本：1) TIARP は、GPI 誘導性関節炎の関節局所に存在する CD11b+細胞で高発現し、その発現は抗 TNF- α 抗体により抑制された。2) STEAP4 蛋白は RA の滑膜細胞に高発現していた。3) STEAP4 過剰発現により IL-6 産生が抑制され、発現低下により IL-6 mRNA が増加した。TIARP/STEAP4 は TNF- α で発現誘導され IL-6 産生を制御する分子であることが示された。
- 5) 上阪：1) FLS からの IL-6 産生は低下したが、IL-6 mRNA レベルでは差がなかった。2) c-MIRTG 由来 BMM において TNF- α および IL-6 産生が低下していた。3) c-MIRTG 由来 BMDC において、TNF- α および IL-6 産生は低下し IL-10 産生には影響がなかった。TNF- α と IL-6 mRNA には有意な低下は認められなかった。以上の結果から、c-MIR によるサイトカイン抑制は転写後制御による機序が想定された。
- 6) 小池：RasGRP4 は単球で高発現しており、RA 患者においては RasGRP4 スプライスバリエント

mRNA 発現が増加して RasGRP4 蛋白が低下していた。スプライスバリエントが RasGRP4 発現を負に制御している可能性が示唆された。

- 7) 山村：1)寛解期 MS 患者では MAIT 細胞数が低下していること、2) TCRV α 24+NKT 細胞と相関している事、3) IFN- γ を高産生することを明らかにした。MAIT 細胞が IFN- γ を介して病態に関わっていることを示した。
- 8) 藤尾：1) TEa TG において CD4+CD25-LAG3+Treg 細胞数が減少していた。2) TEa 腸炎は LAG3+Treg 細胞の移入により改善した。3) 内在性 TCR 発現が低い事、内在性 TCR 発現 T 細胞に LAG3 発現が認められる事を明らかにした。以上の結果から、CD4+CD25-LAG3+Treg 細胞が自然発症腸炎抑制機能を有する事、さらに、CD4+CD25-LAG3+Treg 細胞の分化過程に TCR が関与していることが示唆された。
- 9) 石川：BWF1 マウスにおいて SLE 様病態の発症に伴い Treg 細胞、TFH 細胞、IL17 が増加していること、B1 細胞が Treg 細胞や TFH 細胞を誘導している可能性を示した。
- 10) 田中：1) メモリー B 細胞は減少したままであったがナイーブ B 細胞が回復していた。2) Syk 阻害薬によりメモリー B 細胞の増殖、活性、抗体産生は抑制された。Syk 阻害薬はメモリー B 細胞選択的抑制薬として機能する可能性を示した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

分担研究報告書参照

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

分担研究報告書参照

III 分担研究報告

T細胞分化誘導分子の強発現による自己免疫疾患制御法の開発に関する研究

研究代表者 住田 孝之

筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学 教授

研究協力者：近藤 裕也 1、坪井 洋人 1、飯塚 麻菜 1、松本 功 1、高橋 智 2

1 筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻臨床免疫学

2 筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻分子発生生物学

研究要旨

免疫難病である関節リウマチ(RA) およびシェーグレン症候群(SS)において、発症機序として臓器に浸潤した自己反応性 T 細胞、特に Th17 細胞が重要な役割を果たしている。一方、Th17 細胞の分化は Th1 細胞、Th2 細胞、Treg 細胞などにより制御されている。本研究では、Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞のそれぞれの分化誘導分子である T-bet、GATA3、ROR γ t 分子を強発現した 3 系統のトランスジェニックマウス(TG)を用いて、コラーゲン誘導関節炎 (CIA) および唾液腺炎の発症・制御機構を明らかにすることを目的とした。T-bet TG マウスを用いた研究結果から、1)T-bet TG マウスでは CIA の発症が抑制されていた、2)抗 CII 抗体価が低下していた、3)CII 反応性 CD4+T 細胞からの IL-17 および IFN γ 産生が低下していた、4)脾臓、胸腺の CD4+T 細胞数が減少していた、5)CII 反応性 CD4+T 細胞の機能異常が認められた、6)T-bet の過剰発現により Th17 細胞分化が抑制されていた、ことなどが明らかになった。以上の研究成果から、T-bet の強発現により自己免疫性関節炎が制御されることが判明した。今後は、以上の基盤研究に基づき、Th 細胞分化制御因子を標的とした治療戦略の開発を進める。

A. 研究目的

免疫難病である関節リウマチ(RA) およびシェーグレン症候群(SS)において、発症機序として、臓器に浸潤した自己反応性 T 細胞が重要な役割を果たしている。その病因 T 細胞が炎症を惹起するには、Th17 細胞が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。一方、Th17 細胞は Th1 細胞、Th2 細胞、Treg 細胞などにより制御されている。そこで、本研究では、Th1 細胞、Th2 細胞、Th17 細胞のそれぞれの分化誘導分子である T-bet、GATA3、ROR γ t 分子をヒト CD2 プロモーターを用いて T 細胞に強発現した 3 系統のトランスジェニックマウスを用いて、コラーゲン誘導関節炎 (CIA) および唾液腺炎の発症・制御機構を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1)T-bet トランスジェニックマウス(T-bet TG) (B6 バック) :

(1)T-bet TG に CIA を誘導して関節炎スコア、発症頻

度を検討した。

(2)血清中の CII に対する抗体価を ELISA 法で測定した。

(3)CII 反応性 T 細胞応答(IL-17、IFN- γ)について細胞内サイトカインアッセイと ELISA 法にて検討した。

(4)リンパ節、脾臓、胸腺における T 細胞サブセットの絶対数について検討した。

(5)CD4+T 細胞の機能異常の有無を検討するために、T-bet TG および B6 マウス由来の CD4+T 細胞と CD11c+細胞を MACS で分離して、CII とともに in vitro で共培養し IL-17 および IFN- γ 産生を ELISA で検討した。

(6)T-bet TGxIFN γ -/-マウスにおいて、Th17 細胞分化条件での IL-17 産生細胞数をフローサイトメトリーで解析した。

2)ROR γ t トランスジェニックマウス (ROR γ t TG) (B6 バック) : 12 週令において、唾液腺炎および涙腺炎を H-E 染色にて組織学的に検討した。

3)GATA-3 トランスジェニックマウス (GATA-3 TG)

(B6 バック): 血清中の IgG, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 について ELISA にて解析した。唾液腺炎および涙腺炎については H-E 染色により組織学的に検討した。

(倫理面への配慮)

ヒトの検体を使用する際には、大学の倫理委員会の承認を得た上で、患者さんにインフォームド・コンセントを施行し、十分に研究内容を理解してもらい、本人の同意を得た上で研究を実行した。マウスの実験においては疼痛を与えないために麻酔科で対処した。

C. 研究結果

1) T-bet TG において、

- (1) CIA の関節炎スコアおよび発症頻度は著明に低下していた。
 - (2) 抗 CII 抗体は、総 IgG, IgG1, IgG2a, IgG2b すべてのクラスにおいて著明に減少していた。
 - (3) CII 反応性 CD4⁺T 細胞からの IL-17 および IFN γ 産生は低下していた。
 - (4) リンパ節、脾臓、胸腺の総 T 細胞数および CD4⁺T 細胞は有意に減少していた。
 - (5) T-bet TG 由来の CII 反応性 CD4⁺T 細胞の機能低下が認められた。
 - (6) T-bet TGxIFN γ -/- マウスにおいても IL-17 産生 CD4⁺T 細胞数は減少していた。
- 2) ROR γ t TG : 12 週令において、著明な自然発症唾液腺炎および涙腺炎が認められた。
- 3) GATA-3 TG : 血清 IgG1 の増加および血清 IgG2a の減少が認められた。

D. E. 考察と結論

T-bet 分子の T 細胞での強発現により、CIA の発症が著明に減少した。その機序として、1) CII 反応性 T 細胞からの IL-17 および IFN γ 産生が低下していた、2) CII 反応性 CD4⁺T 細胞の機能低下が認められた、3) T-bet の強発現による Th17 細胞への分化誘導抑制、などが考えられた。ROR γ t 分子の T 細胞における強発現により、自己免疫性唾液腺炎および涙腺炎が発症した。GATA-3 分子の強発現により IgG4 関連疾患様の所見、症状が認められた。以上より、これらの分子の発現は、自己免疫疾患を制御あるいは発症に重要な働きを呈している事が判明した。

F. 研究発表

論文発表

1. Iwanami, K., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Inoue, A., Minami, R., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Nishimura, Y., and Sumida, T. Altered peptide ligands inhibit glucose-6-phosphate isomerase (GPI) peptide-induced arthritis. *Arthritis Res. Ther.* (in press)

2. Ito, I., Kawasaki, A., Ito, S., Kondo, S., Sugihara, M., Horikoshi, M., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Matsuta, K., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Replication of association between FAM167A(C8orf13)-BLK region and rheumatoid arthritis in a Japanese polylation. *Ann. Rheum. Dis.* (in press).
3. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., Ito, S., and Sumida, T. Inhibition of TGF- β signaling attenuates IL-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease. *Clin. Exp. Immunol.* (in press)
4. Wang, Y., Ito, S., Chino, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Murata, H., Tsutsumi, A., Uchida, K., Usui, J., Yamagata, K., and Sumida, T. Analysis of cytokine balance in lupus nephritis by laser-microdissection. *Clin. Exp. Immunol.* (in press)
5. Inoue, A., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Iwanami, K., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Role of tumor necrosis factor- α -induced adipose-related protein in autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum. Ther.* (in press)
6. Tanaka-Watanabe, Y., Matsumoto, I., Iwanami, K., Inoue, A., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T. B cells have crucial role as autoantibody producers in arthritis mediated by glucose-6-phosphate isomerase. *Clin. Exp. Immunol.* 155: 285-294, 2009.
7. Ito, I., Kawasaki, A., Ito, S., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Hom, G., Graham, R.R., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Ohashi, J., Behrens, T.W., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Replication of the association between C8orf13-BLK region and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Arthritis Rheum.* 60: 553-558, 2009.
8. Kawaguchi, Y., Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Nishimagi, E., Kamatani, N., Satoh, T., Kuwana, M., Sumida, T., and Hara, M. Muscarinic-3 acetylcholine receptor autoantibody in patients with systemic sclerosis: contribution to severe gastrointestinal tract dysmotility. *Ann. Rheum. Dis.* 68: 710-714, 2009.
9. Suzuki, T., Ito, S., Handa, S., Kose, K., Okamoto, Y., Minami, M., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. A new low-field extremity magnetic resonance imaging and proposed compact MRI score: evaluation of anti-tumor necrosis factor biologics on rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* 19:358-365, 2009.
10. Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Yoshiga, Y., Iwanami, K., Tsuboi, H., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Altered peptide ligands regulate type II collagen-induced arthritis in mice. *Mod. Rheumatol.* 19:366-371, 2009.
11. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Hayashi, T., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. The

decrement of soluble CD1d proteins affects the function of NKT cells in patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Med.* 24:481-486,2009.

12. Horikoshi, M., Ito, S., Ishikawa, M., Umeda, N., Kondo, Y., Tsuboi, H., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. Efficacy of mizoribine pulse therapy in rheumatoid arthritis patients with reduced or insufficient response to infliximab. *Mod. Rheumatol.* 19: 229-234, 2009.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

申請準備中

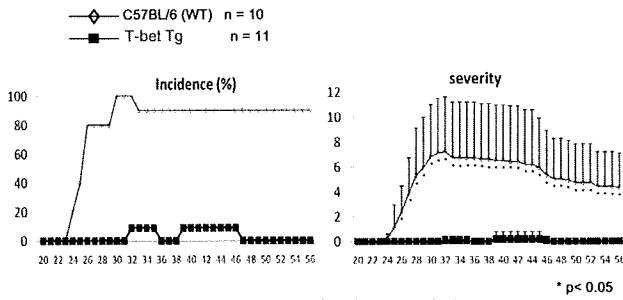
2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記事項なし

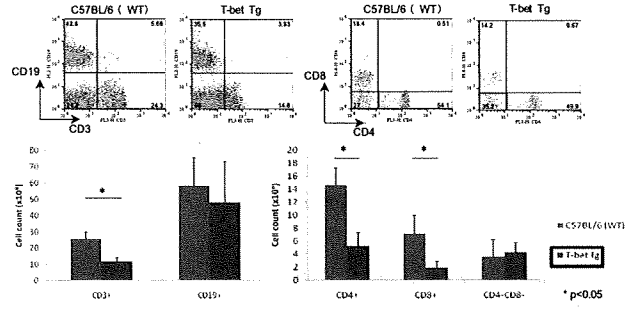
CIAの発症率および 関節スコア



CIAの発症率および関節スコアは抑制

図1 T-bet TG マウスにおける CIA の発症率および関節スコア

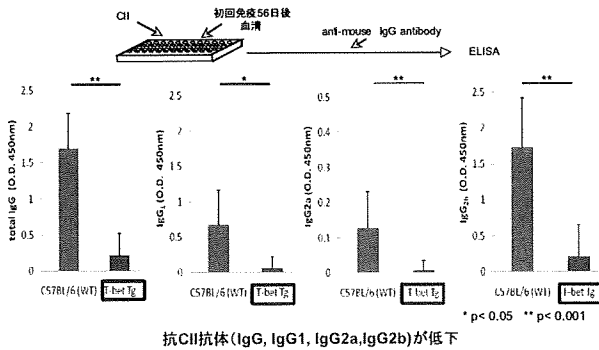
脾臓における T 細胞・B 細胞分画



CD3+T細胞(CD4+およびCD8+)が減少

図4 T-bet TG マウスの脾細胞における T 細胞、B 細胞分画

血清中の抗CII抗体価



抗CII抗体(IgG, IgG1, IgG2a, IgG2b)が低下

図2 T-bet TG マウスにおける血清中の抗 CII 抗体価

CD4+T細胞の異常か? CD11c+APC細胞の異常か?

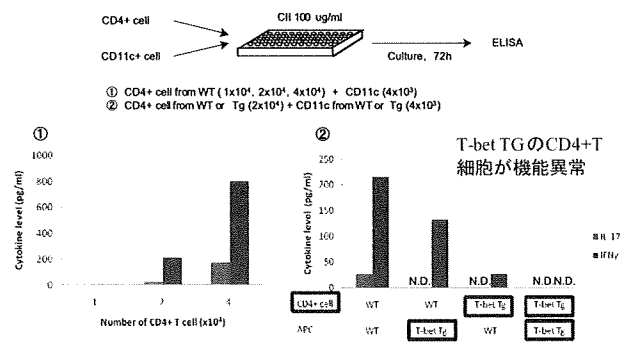


図5 T-bet TG マウスにおける CII 反応性 CD4+ T 細胞の機能異常

CII特異的CD4+T細胞による cytokine産生

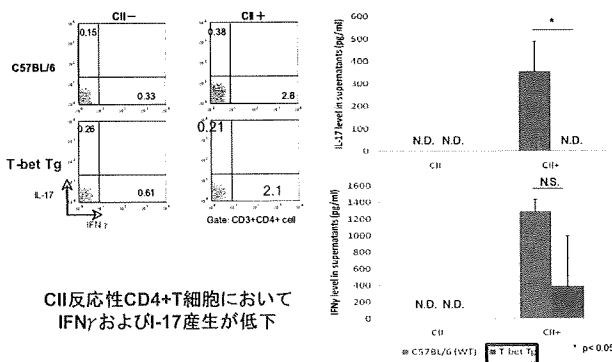


図3 T-bet TG マウスにおける CII 特異的 CD4+ T 細胞によるサイトカイン産生

T-bet発現がTh17細胞分化を抑制

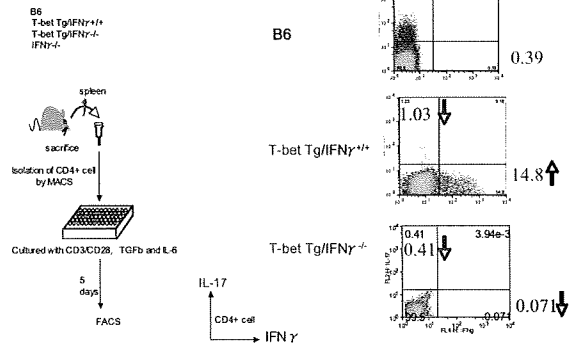


図6 T-bet 過剰発現が直接 Th17 細胞分化を抑制

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

免疫疾患における TH1/TH2 細胞の役割と制御に関する研究

研究分担者 筑波大学人間総合科学研究科 高橋 智（教授）
研究協力者

研究要旨

免疫疾患の発症の一部は、TH1/TH2 細胞、および TH17 細胞によって制御されている。本研究では T-bet、GATA-3、ROR γ t を過剰発現したマウスに免疫疾患モデルを誘導し、TH1/TH2 および TH17 の疾患増悪における関与を個体レベルで解析し、免疫疾患における TH1/Th2 細胞および TH17 細胞の機能解析について研究を行う。

A. 研究目的

免疫疾患における TH1/TH2 細胞の役割については、90 年代よりその重要性が論じられてきた。最近では TH17 細胞の重要性についても論じられている。免疫疾患における TH1/TH2 および TH17 細胞の機能を解析し、その役割と制御について明らかにすることが本研究の目的である。

B. 研究方法

T 細胞特異的に発現する CD2 プロモータを有する VA vector に TH1 転写因子 T-bet、TH2 転写因子 GATA-3、TH17 転写因子 ROR γ t を挿入し、これを用いて遺伝子改変マウスを作製した。その結果、T 細胞特異的に T-bet、GATA-3、ROR γ t を発現するトランスジェニック (TG) マウスの作製に成功した。作製した TG マウスと自己免疫腎炎マウス (BXSJ/MpJ-*Yaa* マウス) とを掛け合わせ、または薬物投与により自己免疫腎炎を誘導し、発症進行と T-bet、GATA-3 および ROR γ t との関連について検討する。

C. 研究結果

2008 年度までは、T-bet TG マウスおよび GATA-3 TG マウスと Th1 優位自己免疫腎炎を発症する BXSJ/MpJ-*Yaa* マウスは掛け合わせた結果、T-bet Tg マウスでは腎炎の増悪、GATA-3 Tg マウスでは腎炎の改善が認められ、TH1/TH2 のバランス調整をはかることにより、腎炎の病態制御が可能であることを明らかにした。本年度では、さらに ROR γ t Tg マウスの解析を行った。ROR γ t Tg マウスでは、高ガンマグロブリン血症を呈し、肺、脾臓などに形質細胞の浸潤が認められた。また、ROR γ t Tg マウスを B6 背景から Balb/c 背景に移行するに伴い、形質細胞の浸潤の増加、貧血の進行、寿命の短縮が認められた。

D. 考察

TH1/TH2 疾患における、病態改善の試みとして、これまでではサイトカイン投与や抗体投与が行われてきた。本研究では、転写因子制御より病態制御を試み、TH1 優位自己免疫疾患における TH2 誘導にて、疾患改善の有効性を確認した。また、Balb/c 背景の ROR γ t Tg マウスにおける高ガンマグロブリン血症の原因としては、IL-17、IL-6 高値の関与が推測される。

E. 結論

われわれは、転写因子 T-bet と GATA-3 過剰発現トランスジェニックマウスを用いて、自己免疫疾患における転写制御と病態制御について検討を行い、また、ROR γ t Tg マウスでは、高ガンマグロブリン血症など多彩の表現型を呈した。さらに Balb/c 背景に移行することによる表現型の増強を確認した。今後は免疫疾患における TH17 細胞の役割も総合的に検討し、TH1/TH2/TH17 細胞の機能解析を引き続き行う予定である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Maeda, A., Moriguchi, T., Hamada, M., Kusakabe, M., Fujioka, Y., Nakano, T., Yoh, K., Lim, K. C., Engel, J. D., Takahashi, S. Transcription factor GATA-3 is essential for lens development. *Dev. Dyn.*, 238; 2280-2291, 2009.
2. Shimohata, H., Yamada, A., Yoh, K., Ishizaki, K., Morito, N., Yamagata, K., Takahashi, S. Overexpression of T-bet in T-cell accelerates autoimmune glomerulonephritis in mice with a

dominant Th1 background. *J. Nephrol.*, 22; 123-129, 2009.

3. Honda, S. I., Kurita, N., Miyamoto, A., Cho, Y., Usui, K., Takeshita, K., Takahashi, S., Yasui, T., Kikutani, H., Kinoshita, T., Fujita, T., Tahara-Hanaoka, S., Shibuya, K., Shibuya, A. Enhanced humoral immune responses against T-independent antigens in Fc{alpha}{micro}R-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106; 11230-11235, 2009.

2. 学会発表

1. 濱田理人、服部元親、松井亜希子、森戸直記、工藤崇、高橋 智. 転写因子 Mafb/c-Maf 二重欠損マウスは SLE 様自己免疫疾患を発症する. 日本臨床免疫学会総会 2009.10.13~15. 東京
2. 本多伸一郎、栗田尚樹、宮本顕友、張愉紀子、白井健太、竹下貴恵、高橋 智、安居輝人、菊谷 仁、木下タロウ、藤田禎三、田原聡子、渋谷和子、渋谷彰. Enhanced humoral immune responses against T-independent antigens in Fca/mR-deficient mice. 日本臨床免疫学会総会 2009.10.13~15. 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

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等予防・治療研究事業）
分担研究報告書

自己免疫性炎症におけるサイトカインと自然免疫の機能

研究分担者 小安重夫 慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室 教授
研究協力者 永井重徳 慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室 助教
研究協力者 香取良祐 慶應義塾大学医学部 微生物学・免疫学教室 大学院生

研究要旨

我々は自己免疫性炎症におけるサイトカインと自然免疫の機能を解析するため、関節リウマチの動物モデルとして使われる collagen induced arthritis (CIA) モデルを改良し、特に樹状細胞の機能に着目して研究を行った。従来の CIA 誘導法では II 型コラーゲンを 2 度免疫することで関節炎を誘導するが、樹状細胞の数を制御し、また樹状細胞にのみ操作を加える目的のため、1 度目の免疫を樹状細胞移植に代替した。この方法によって、2 度目の免疫から 20-30 日後に細胞浸潤を伴い骨びらんや骨破壊を呈する CIA を発症させることに成功した。この新規 CIA 誘導法では、発症率や重症度は移植する樹状細胞の TLR 刺激により上昇したが、これは抗原提示関連分子の発現増強と相関していた。また、あらかじめ感作されたヘルパー T 細胞を共に移植することにより、さらに発症率や重症度が増強したことから、一次応答期における樹状細胞のヘルパー T 細胞に対する抗原提示の効率が、病態形成に影響を及ぼすことが示唆された。以上のことから、この新規 CIA 誘導法は、CIA 病態形成における樹状細胞の役割を解明するための新たな解析系となり得ることから、非常に有用であると考えられた。

A. 研究目的

自然免疫性の炎症疾患の発症機序の理解は、治療法の開発を考えるためにも重要である。これまでの免疫学研究が示すところは獲得免疫系の起動にも自然免疫反応が重要な役割を果たし、特に Toll 様受容体 (TLR) シグナルに代表されるアジュバントの役割は、自然免疫系と獲得免疫系の橋渡しに重要であることが示されている。また、樹状細胞やマクロファージなどの自然免疫系の細胞が発現するサイトカインは、様々な場面で重要な役割を果たすことも明らかにされている。自己免疫疾患の 1 つである関節リウマチは、MHC ハプロタイプにより発症率に偏りがあることや、TLR リガンドを豊富に含む細菌やウイルスなどの感染体によって引き起こされることが知られている。そこで MHC および TLR を発現する樹状細胞が関節リウマチの発症に関与する可能性が高いことから、この細胞の関与を解析することを試みた。しかしながら、これまで関節リウマチの動物モデルとして用いられている CIA においては、抗原となる II 型コラーゲンをアジュバントとともに 2 度免疫することによって誘導されるが、この方法では発症機序における樹状細胞の役割を解析するのは困難であった。すなわち、単に免疫するだけでは刺激を与える樹状細胞の数を制御することが出来ず、また免疫部位に存在するあらゆる細胞に抗原やアジュバントが接触する可能性があり、樹状細胞のみに手を加えることが出来なかった。そこで我々は、これらの難点を克服するため、1 度目の免疫時に樹状細胞を移植することによって発症する新たな CIA モデルを開発し、一次応答時における樹状細胞の役割を解析することとした。この方法を用いれば、様々な TLR リガ

ンドで刺激した樹状細胞を使うことによって、TLR リガンドが関節リウマチ発症に及ぼす影響について検討することが可能になるとともに、例えばサイトカイン遺伝子欠損マウス由来樹状細胞を用いることによって、樹状細胞から産生されるサイトカインが発症にどのように関与するかなどを明らかにすることができ、自己免疫疾患における樹状細胞に関する研究に大いに貢献できると考えられる。

B. 研究方法

1) 新規 CIA モデルにおける TLR リガンドの影響

従来、CIA には DBA/1 系統のマウスが用いられてきたが、様々な遺伝子改変マウスを用いることができるという点で C57BL/6 系統のマウスを用いることが望ましい。Kai らによって、アジュバントに用いる結核菌死菌 (Tb) を増量することで C57BL/6 系統のマウスにも効率よく CIA を誘導できることが報告されたことから、本研究では C57BL/6 系統のマウスを用いることとした。

まず脾臓樹状細胞 (DC) を単離し、(a) 何も加えない群、(b) 抗原としてトリ II 型コラーゲン (CII) 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加える群、(c) CII 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ およびアジュバントとしてリポ多糖 (LPS) 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加える群について、それぞれ 24 時間培養した。培養後の細胞を回収し、樹状細胞表面に発現する MHC class II、CD40、CD86 の発現強度を測定し、培養前の発現強度と比較した。一方で、24 時間培養した樹状細胞を 2 度洗浄の後、マウス 1 匹あたり 2.5×10^5 個を静脈内投与した。その 10 日後に、CII 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、Tb 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、等量の不完全フロイントアジュバント (IFA) をエマルジョンにし、これをマウス 1 匹あたり 100 μl 皮内投与し

た。その後約1ヶ月にわたり、経時的に採血および経過観察を行い、コラーゲン特異的抗体価、発症率および重症度を測定した。発症したマウスについては、ホルマリン固定の後にパラフィンに包埋・薄切し、H&E染色を行った。また、腫脹した関節をcollagenase及びDNaseで処理した後、Percollによる密度勾配遠心法によって白血球を分離し、細胞内サイトカイン染色法によって浸潤したヘルパーT細胞サブセットを検討した。

2) 新規CIAモデルにおける抗原提示の影響

ヘルパーT(CD4⁺T)細胞に対する抗原提示能の違いが及ぼす影響を調べるため、上記1)の方法を改変して行った。すなわち、(a)DCをCIIおよびLPSで刺激する群、(b)DCをCIIおよびLPSで刺激する際に2.5 x 10⁶個のCD4⁺Tを共培養する群について、細胞を回収および洗浄の後にマウスに投与し、1度目の免疫とした。以降は1)と同様に操作し、抗体価、発症率および重症度を測定した。

3) TLRリガンドがCIA発症に及ぼす影響に関する予備的検討

TLRはマウスではTLR1からTLR9までが知られ、様々な微生物成分を認識することが出来る。それぞれの受容体に対するリガンドによって、DCから産生されるサイトカインの種類やその量は異なることが予想され、この違いがCIAの発症率や重症度に対して、どのような影響を及ぼすかを明らかにしたいと考えている。その予備的な検討として、様々なTLRリガンド刺激によりDCから産生されるサイトカインについて、リウマチ発症に関係の深いTNF α や、Th1あるいはTh17細胞分化に重要なIL-12およびIL-6の産生を測定した。TLRリガンドとして、Pam3CSK4 (TLR1/2)、zymosan (TLR2/6)、poly I:C (TLR3)、peptidoglycan (TLR2/6)、poly U (TLR7)、CpG-DNA (TLR9)を用い、それぞれをDCと37°Cで培養し、6時間後の細胞を回収してRNAを抽出し、RT-PCRにより遺伝子発現解析を行った。また同様に37°Cで24時間培養した上清を回収し、ELISA法にて産生されたサイトカイン量を測定した。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え生物の取り扱いに関して、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」、及び慶應義塾大学医学部における遺伝子組換え実験安全委員会の指針に則って、遺伝子組換え実験計画書を作成・提出し、審査を受け承認を得ている。また動物実験は大学の動物実験委員会に申請して承認を得ており、同規則に従って行った。

C. 研究結果

1) 新規CIAモデルにおけるTLRリガンドの影響

皮内投与20-30日後に、(b)および(c)群において、軟骨のびらんおよび細胞浸潤による関節破壊を伴う関節リウマチを発症し、関節は著しく変形していた。関節に浸潤した細胞には、Th1細胞およびTh17細胞が含まれていた。樹状細胞表面抗原の発現強度につい

て、MHC class II、CD40、CD86のいずれについても、培養前、(a)群、(b)群、(c)群の順に発現強度が増強した。抗CII IgGおよびIgG_{2c}抗体価については、各群とも皮内免疫14日後から徐々に抗体価が上昇したが、群間で有意な差が見られなかった。また発症率については、(b)群では発症率は2割程度であったが、(c)群では約4割に上昇した。重症度においても、(c)群では(b)群に比べて高い重症度の個体が多く見られた。

2) 新規CIAモデルにおける抗原提示能の影響

皮内投与20-30日に、両群とも1)と同様に関節リウマチを発症した。抗CII IgG抗体価について、両群とも皮内免疫14日後から徐々に抗体価が上昇したが、(a)群に比べて(b)群ではやや低い傾向が見られた。発症率は(a)群では4割程度だったのに対し、(b)群では約8割に上昇した。重症度に関しては、(a)群に比べて(b)群の方が高い傾向にある個体数が多く見られた。

3) TLRリガンドがCIA発症に及ぼす影響における予備的検討

TLR刺激6時間後における遺伝子発現について、IL-12p40は500 nMのCpG-DNAで、IL-6は100 μ g/ml poly Uおよび500 nMのCpG-DNAで、TNF α は500 nMのCpG-DNAおよび10 μ g/mlのzymosanで発現が高かった。また、24時間刺激後の培養上清中のサイトカイン産生量について、IL-12p40およびIL-6は500 nMのCpG-DNAで、TNF α は500 nMのCpG-DNAおよび10 mg/mlのzymosanで発現量が高く、先に示した遺伝子発現とほぼ関連していた。

D. 考察

CIAにおける樹状細胞の関与・機能を解析するため、従来法を改良し、1度目の免疫を細胞移植することによる免疫法を用いた。これにより従来法と遜色のないCIAを発症した。TLRの刺激により、樹状細胞上の抗原提示関連分子の発現が上昇し、この現象とCIAの発症率・重症度が関連した。また、予めヘルパーT細胞を樹状細胞によって*in vitro*で刺激しておくこと、さらに発症率や重症度が上昇することから、一次応答期における抗原提示の強さが、CIA病態形成に重要であることが示唆された。一方、CIIに対する抗体価については、発症に重要であると言われているものの、本CIAモデルにおいては、発症するか否かにかかわらず上昇してくることから、一次応答期における抗原提示の強さは、抗体産生とは直接関係ないことが示唆された。

TLRリガンドの種類によって、樹状細胞から産生される炎症性サイトカインの種類や異なり、特にCpG-DNAによって、関節リウマチ発症に関わるサイトカイン産生が増強されることが明らかになった。そこで次年度以降は、LPSの代わりにCpG-DNAで刺激した樹状細胞を移植した場合に発症率や重症度が高

くなるか、また、IL-15 ノックアウトマウスなどのサイトカイン産生不全マウス由来樹状細胞を移植した場合に、発症率や重症度が低くなるかについて検討を加える予定である。

E. 結論

関節リウマチの動物モデルである CIA 誘導法を改変し、樹状細胞の機能を解析するのに有用な新規 CIA 誘導法を確立した。この方法により、一次応答期における樹状細胞の抗原提示効率が、病態形成に大きな影響を及ぼしていることを明らかにした。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Jinushi, M., Sato, M., Kanamoto, A., Itoh, A., Nagai, S., Koyasu, S., Dranoff, G. and Tahara, H. (2009) Milk fat globule EGF-8 blockade triggers tumor destruction through coordinated cell-autonomous and immune-mediated mechanisms. **J. Exp. Med.** 206:1317-1326.
2. Gilio, K., Munnix, I. C., Mangin, P., Cosemans, J. M. Feijge, M. A., van der Meijden, P. E., Olieslagers, S., Chrzanowska-Wodnicka, M. B., Lillian R., Schoenwaelder, S., Koyasu, S., Sage, S. O., Jackson, S. P. and Heemskerk, J. W. (2009) Non-redundant roles of phosphoinositide 3-kinase isoforms α and β in glycoprotein VI-induced platelet signaling and thrombus formation. **J. Biol. Chem.** 284:33750-33762.
3. Nagamatsu, K., Kuwae, K., Konaka, T., Nagai, S., Watanabe, M., Yoshida, S., Mimuro, H., Koyasu, S., and Abe, A. (2009) *Bordetella* evades the host immune system by inducing IL-10 through a type III effector, BopN. **J. Exp. Med.** 206:3073-3088.
4. Moro, K., Yamada, T., Tanabe, M., Takeuchi, T., Ikawa, T., Kawamoto, H., Furusawa, J.-I., Ohtani, M., Fujii, H. and Koyasu, S. (2010) Innate production of Th2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit⁺Sca-1⁺ lymphoid cells. **Nature** 463:540-544.
5. Nitta, T., Murata, S., Sasaki, K., Fujii, H., Ripen, A. M., Ishimaru, N., Koyasu, S., Tanaka, K. and Takahama, Y. (2010) Thymoproteasome shapes immunocompetent repertoire of CD8 T cells. **Immunity** 32:29-40.
6. Arimura, Y., Ezaki, T., Koyanagi, M., Uchiyama, T., Koyasu, S. and Yagi, J. (2010) Reduced T cell expansion by a superantigen due to impaired B cell development in mice deficient for the p85 α regulatory subunit of PI3K. **J. Leuc. Biol.** in press.

2. 学会発表

1. 小安重夫.
樹状細胞からのサイトカイン発現調節を介した免疫制御. 第 44 回日本小児腎臓病学会学術集会 (東京) 2009 年 6 月 27 日発表 (講演)
2. Shigenori Nagai. The role of helper T cells in *Helicobacter pylori*-induced gastritis. GI Executive Meeting 2009. (京都) 2009 年 6 月 19 日発表 (講演).
3. Yutaka Kurebayashi, Shigenori Nagai, Yukiko Baba, Shigeo Koyasu. Th17 differentiation is positively controlled by PI3K/Akt signaling. The 9th World Congress on Inflammation. (東京) 2009 年 7 月 8 日発表 (講演).
4. 紅林 泰, 永井重徳, 馬場夕紀子, 小安重夫. ヘルパーT細胞分化における PI3K/Akt/mTORC1 経路の役割. 第 82 回日本生化学会大会 (兵庫) 2009 年 10 月 23 日発表 (ポスター)
5. 小安重夫. 樹状細胞と自然免疫から免疫病を考えるーサイトカイン発現調節を介した免疫制御を目指してー 第 37 回日本臨床免疫学会総会 (東京) 2009 年 11 月 13 日発表 (講演)
6. 小安重夫. 免疫反応の司令塔: 樹状細胞. かわさきサイエンス&テクノロジーフォーラム 2009 (神奈川) 2009 年 11 月 17 日発表 (講演)
7. 紅林泰, 永井重徳, 馬場夕紀子, 小安重夫. Th17 細胞分化における PI3K-Akt-mTOR 経路の重要性. 第 39 回日本免疫学会総会・学術総会 (大阪) 2009 年 12 月 2 日発表 (口頭/ポスター)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし