

53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2009.4.23-26.

5. 杉崎良親, 森本真司, 小笠原倫大, 天野浩文, 田村直人, 高崎芳成. ステロイド治療で発熱・耳鳴・難聴・眩暈症状の改善をみた Cogan 症候群の 1 例. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2009.4.23-26.

6. 森本真司, 玉山容碩, 仲野総一郎, 渡邊崇, 天野浩文, 戸叶嘉明, 小暮敏明, 高崎芳成. コラーゲン誘発性関節炎における補中益気湯の IL-17 抑制による関節炎抑制効果の検討. 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2009.4.23-26.

7. 森本真司, 玉山容碩, 安藤誠一郎, 渡邊崇, 仲野総一郎, 天野浩文, 小暮敏明, 高崎芳成. コラーゲン誘発性関節炎における補中益気湯に IL-17 抑制による関節炎抑制効果の検討. 第 37 回日本臨床免疫学会総会. 東京 2009.11.13-15.

8. 渡邊崇, 仲野総一郎, 天野浩文, 森本真司, 戸叶嘉明, 高崎芳成. 急性期 SLE を中心とする異所性リンパ組織の産生及び免疫反応の有無についての検討. 第 37 回日本臨床免疫学会総会. 2009.11.13-15.

広瀬 幸子 (研究分担者)

1. 天野浩文, 天野恵理, 仲野総一郎, 安藤誠一郎, 箕輪健太郎, 渡邊崇, 森本真司, 林青順, 広瀬幸子, 戸叶嘉明, 高崎芳成. Toll-like receptor(TLR)とリウマチ性疾患: 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会記録 121 頁 2009

2. 大辻希樹, 林青順, 西村裕之, 須藤カツ子, 白井俊一, 広瀬幸子. IFN- γ および IL-17 産生亢進を伴う新しい関節炎モデル: 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会記録 374 頁 2009

3. 広瀬幸子, 林青順, 大辻希樹, 大辻奈穂美, 白井俊一 ワークショップ 2 動物モデルを用いた治療戦略の開発 WS2-4 抑制性 IgG Fc レセプターの発現亢進による SLE の抑制 第 98 回日本病理学会総会 日本病理学会会誌 98(1):165, 2009

4. TSURUI Hiromichi, HIROSE Sachiko. Phagocytosis specific autofluorescence observed in marginal metallophilic macrophages. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 28 頁 2009

5. Wang Yingge, ITO Satoshi, SUZUKI Mizuho,

SUGIHARA Makoto, HAYASHI Taichi, GOTO Daisuke, MATSUMOTO Isao, LIN Qingshun, HIROSE Sachiko, SUMIDA Takayuki, Laser microdissection analysis of T cells infiltrating in kidney lesions of lupus-prone mouse models. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 71 頁 2009

6. 福永加奈美, 相澤ゆかり, 大辻希樹, 西川桂子, 大辻奈穂美, 鶴井博理, 中江進, 須藤カツ子, 白井俊一, 小寺洋, 広瀬幸子, 西村裕之. 新しい硬直性腱付着部炎モデルマウスを用いた疾患感受性遺伝子解析の試み 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 154 頁 2009

7. HOU Rong, OHTSUJI Mareki, OHTSUJI Naomi, ZHANG Li, ADACHI Takahiro, HIROSE Sachiko, TSUBATA Takeshi. Centromeric interval of chromosome 4 derived from C57BL/6 mice accelerates type I diabetes in NOD.CD72b congenic mice. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 162 頁 2009

8. OBATA Masaomi, FUJII Makuma, KODERA Yo, OHTSUJI Mareki, SHIRAI Toshikazu, HIROSE Sachiko, NISHIMURA Hiroyuki. Mechanism of Th-cell tolerance induced with tolerogenic protein antigen conjugated with polyethylene glycol(PEG). 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 176 頁 2009

9. SATO Aya, HOU Rong, LIN Qingshun, OHTSUJI Mareki, ADACHI Takahiro, HIROSE Sachiko, TSUBATA Takeshi. Role of CD72 polymorphism for autoimmune disease. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 252 頁 2009

10. XU Miduo, HOU Rong, OHTSUJI Mareki, OHTSUJI Naomi, ADACHI Takahiro, HIROSE Sachiko, TSUBATA Takeshi. CD72 modulates the development of lupus-like disease in B6lpr/lpr mice. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 252 頁 2009

11. LIN Qingshun, HOU Rong, SATO Aya, TSURUI Hiromichi, OHTSUJI Mareki, OHTSUJI Naomi, NISHIKAWA Keiko, NISHIMURA Hiroyuki, SUDO Katsuko, SHIRAI Toshikazu, HIROSE Sachiko. Fcgr2b promoter region polymorphism is a key genetic element for breakdown of self-reactive B cell tolerance. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 253 頁 2009

12. 北畠正大, 五十嵐英哉, 戸田哲平, 大辻希樹,

鶴井博理、広瀬幸子、坂口薫雄. G5PR that suppresses JNK-mediated Bim phosphorylation is increased in B-1 cells associated with autoimmunity. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 256 頁 2009

三宅 幸子 (研究分担者)

国際学会

1. Miyake S, Yokote H, Lin Y, Yamamura T. The role of regulatory cells in the regulation of EAE. 2nd German-Japanese Neuroimmunology Symposium, Eibsee, 10th, July 2009

2. Chiba A, Tajima R, Miyazaki Y, Ichikawa D, Yamamura T, Miyake S: The role of MR-1 restricted MAIT cells in the pathogenesis of arthritis. American College of Rheumatology 73rd Annual Scientific Meeting, Philadelphia, 10.19, 2009

3. American College of Rheumatology 71th Annual Scientific Meeting, Washington, DC, November 13, 2006 (Arthritis Rheum. 58:S508, 2008)

国内学会

1. 三宅幸子: 免疫制御細胞による自己免疫性疾患. 第 53 回日本リウマチ学会, 横浜, 4 月 24 日, 2009 (第 53 回日本リウマチ学会総会抄録集 p122)

2. 宮崎雄生, 三宅幸子, 山村 隆: ヒト末梢血における mucosal associated invariant T 細胞に関する研究. 第 37 回日本臨床免疫学会総会, 東京, 11. 13, 2009

3. 宮崎雄生, 千葉麻子, 水野美歩, 任海千春, 市川大樹, Iraide Alloza, 山村 隆, Koen Vandebroek, 三宅幸子: 新規 celecoxib アナログは Th17, Th1 細胞の抑制を介して多発性硬化症, 関節リウマチのマウスモデルを抑制する. ワークショップ 18, 第 39 回日本免疫学会総会, 大阪, 12. 2, 2009

4. 市川大樹, 水野美歩, 大木伸司, 山村 隆, 三宅幸子: T 細胞アナジーに関連した E3 リガーゼ GRAIL の基質同定. 第 39 回日本免疫学会, 大阪, 12. 2, 2009

5. 千葉麻子, 宮崎雄生, 市川大樹, 山村隆, 三宅幸子: 炎症性関節炎における MR1 拘束性 MAIT 細胞の役割. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12.2, 2009

加藤 智啓 (研究分担者)

1. 岡本一起, 永井宏平, 有戸光美, 黒川真奈絵,

増子佳世, 末松直也, 遊道和雄, 磯橋文秀, 加藤智啓 ビタミン B6 酵素の転写を促進する核内受容体 コアクティベーター(MTI-II)のホモログタンパク質 (prothymisin) の活性. 日本ビタミン学会第 61 回大会: 2009

2. 唐澤里江, 遊道和雄, 村田美奈子, 尾崎承一, 西岡久寿樹, 加藤智啓: 高安動脈炎の疾患特異的マーカー. 第 53 回リウマチ学会: 2009

3. 増子佳世, 村田美奈子, 遊道和雄, 中村洋, 別府諸兄, 加藤智啓: 変形性関節症における軟骨変性と血管新生: 第 53 回リウマチ学会総会・学術集会 第 18 回国際リウマチシンポジウム. 2009

4. 村田三奈子, 遊道和雄, 唐澤里江, 加藤智啓, 千葉純司, 別府諸兄, 西岡久寿樹, 井上和彦, 増子佳世: 関節軟骨におけるヒアルロン酸レセプター Layilin についての検討. 第 53 回リウマチ学会: 2009

5. 川上雄起, 増子佳世, 遊道和雄, 齋藤知行 1), 加藤智啓: 関節軟骨細胞におけるアンギオテンシン α レセプターの発現. 第 53 回リウマチ学会: 2009

6. 中村浩士, 松崎益徳 1), 加藤智啓: 拡張型心筋症の発症と進展機序に関する抗心筋抗体の検討: 第 53 回リウマチ学会. 2009:

7. 有戸光美, 黒川真奈絵, 増子佳世, 岡本一起, 永井宏平, 末松直也, 加藤智啓: 「アセチル化」プロテオミクスによる関節リウマチ(RA) 関連分子の探索. 日本プロテオーム機構第 7 回大会: 2009

8. 初谷守朗, 黒川真奈絵, 紅露剛史, 永井宏平, 有戸光美, 増子佳世, 末松直也, 岡本一起, 伊東文生, 加藤智啓: 末梢血単核球のプロテオーム解析による潰瘍性大腸炎クローン病の鑑別診断.: 日本プロテオーム機構第 7 回大会: 2009

9. 飯塚進子, 岡本一起, 有戸光美, 永井宏平, 黒川真奈絵, 増子佳世, 末松直也, 廣畑俊成, 加藤智啓: 中枢神経ループスにおける抗神経細胞抗体の対応抗原の検出. 日本プロテオーム機構第 7 回大会: 2009

10. 高桑由希子, 黒川真奈絵, 大岡正道, 永井宏平, 有戸光美, 増子佳世, 末松直也, 岡本一起, 尾崎承一, 加藤智啓: 顕微鏡的多発血管炎患者血清ペプチドの網羅的探索. 日本プロテオーム機構第 7 回大会: 2009

11. 深澤雅彦, 岡本一起, 中村学, 永井宏平, 有戸光美, 黒川真奈絵, 増子佳世, 末松直也, 肥塚泉,

加藤智啓:めまいモデルラット前庭代償期における小脳片葉プロテオーム解析。日本プロテオーム機構第7回大会:2009

12. 金城永幸、小坂橋賢一郎、Yang Xiang、永井宏平、黒川真奈絵、岡本一起、有戸光美、増子佳世、遊道和雄、安田隆、末松直也、木村健二郎、加藤智啓:血清ペプチドミクス解析によるIgA腎症の診断マーカーの探索。日本プロテオーム機構第7回大会:2009

13. 加藤智啓:リウマチ性疾患におけるプロテオミクス解析。日本プロテオーム機構第7回大会:2009

14. 安藤敬永、永井宏平、近田正英、岡本一起、黒川真奈絵、増子佳世、有戸光美、末松直也、小林俊也、加藤智啓、幕内晴朗:プロテオミクスによる腹部大動脈瘤形成機序の解明。第50回日本脈管学会総会:2009

15. 長田賢一、増子佳世、竹鼻健司、田中孝幸、安東利彦、松本美富士、加藤智啓、西岡久寿樹:血清アミノ酸成分解析による線維筋痛症とうつ病の判別の検討。第1回日本線維筋痛症学会:2009

16. Arito M, Kurokawa M, Masuko K, Okamoto K, Nagai K, Suematsu N, Kato T: Acetyl-Proteomics for the Investigation of Pathological Molecules in Rheumatoid Arthritis. WHUPO: 2009

17. Nagai K, Kaneshiro N, Xiang Y, Kurokawa M, Okamoto K, Arito M, Masuko K, Yudoh K, Yasuda T, Suematsu N, Kimura K, Kato T: Comprehensive analysis of short peptides in sera from patients with IgA nephropathy. WHUPO: 2009

18. Fukasawa M, Okamoto K, Nakamura M, Nagai K, Arito M, Kurokawa M, Masuko K, Suematsu N, Koizuka I, Kato T: Proteomics of Cerebellar Floccules during Vestibular Compensation of A Rat Vertigo Model. WHUPO 2009

19. Hatsugai M, Kurokawa M, Kouro T, Nagai K, Arito M, Masuko K, Suematsu N, Okamoto K, Ito F, Kato T: Protein Profiles of Peripheral Blood Mononucleocytes are Useful for Discrimination of Ulcerative Colitis from Crohn's Disease. WHUPO 2009

20. 有戸光美、松尾光祐、黒川真奈絵、永井宏平、岡本一起、増子佳世、末松直也、加藤智啓:関節リウマチ関連分子アネキシン A7の機能解析。第82

回日本生化学会大会:2009

21. 初谷守朗、黒川真奈絵、紅露剛史、永井宏平、有戸光美、増子佳世、末松直也、岡本一起、伊東文生、加藤智啓:末梢血単核球のプロテオーム解析による潰瘍性大腸炎とクローン病の鑑別診断。第82回日本生化学会大会:2009

22. 高桑由希子、黒川真奈絵、大岡正道、永井宏平、有戸光美、増子佳世、末松直也、岡本一起、尾崎承一、加藤智啓:顕微鏡的多発血管炎患者血清ペプチドの網羅的探索。第82回日本生化学会大会:2009

23. 岡本一起、末松直也、増子佳世、黒川真奈絵、有戸光美、永井宏平、遊道和雄、加藤智啓:新規の核内レセプター・コアクティベーター(MTI-II)の立体構造と転写促進活性。第82回日本生化学会大会:2009

24. 深澤雅彦、岡本一起、中村学、永井宏平、有戸光美、黒川真奈絵、増子佳世、末松直也、肥塚泉、加藤智啓:片側内耳破壊後の前庭代償におけるラット小脳片葉タンパク質のプロテオーム解析。第82回日本生化学会大会:2009

25. 永井宏平、金城永幸、Yang Xiang、黒川真奈絵、岡本一起、有戸光美、増子佳世、遊道和雄、安田隆、末松直也、木村健二郎、加藤智啓:多変量解析 OPLS-DA を用いた IgA 腎症の血清ペプチドマーカーの検索。第82回日本生化学会大会:2009

西本 憲弘 (研究分担者)

1. 李 慧敏、美馬亨、杉野英彦、安達康雄、青木千恵子、西本憲弘. DNA チップによる SLE の遺伝子発現解析-ループ腎炎に対するエンドキサン大量療法により、インターフェロンによって誘導される遺伝子発現は低下した. 第53回日本リウマチ学会. 東京.2009.4.24

2. Lee H, Mima T, Sugino H, Aoki C, Nishimoto N. Tumor Necrosis Factor(TNF) Emerged as A Dominant Cytokine in Peripheral Blood Immunoregulatory Network of Lupus Nephritis Patient after Treatment. EULAR2009. Copenhagen.2009.6.11

3. Nishimoto N, Sugino H, Aoki C, Lee H, Matsubara K, Mima T. Gene expression profiling of S100 protein families in the peripheral blood from patients with RA, SLE, polyJIA and sJIA-correlation between S100A4

expression and joint destruction-. EULAR2009. Copenhagen. 2009.6.12

4. Lee H, Sugino H, Adachi Y, Ochi T, Nishimoto N. DNA Microarray Analysis Revealed Abnormal Networks of Immune Response Molecules in Bone Marrow Cells from Patients with Rheumatoid Arthritis(RA). ACR/ARHP2009. Philadelphia. USA.

5. Sugino H, Aoki C, Lee H, Adachi Y, Matsubara K, Ochi T, Nishimoto N. About half of S100 cluster genes on chromosome 1q21.1 are up-regulated in patients with rheumatoid arthritis(RA), systemic lupus erythematosus (SLE), polyarticular type juvenile idiopathic. ACR/ARHP2009. Philadelphia. USA.

6. 李 慧敏. 杉野英彦. 安達康雄. 青木千恵子. 西本憲弘. Up-regulation of hemophilic cell adhesion-related molecules in peripheral blood may contribute to patho-genesis of rheumatoid arthritis (RA). 第37回日本臨床免疫学会. 東京. 2009.11.13-15

田中 良哉 (研究分担者)

1. Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike. Discontinuation of infliximab therapy is possible after acquiring remission in patients with rheumatoid arthritis (RA): first report on RRR (remission induction by remicade in RA) study. The Annual European Congress of Rheumatology 2009, Copenhagen 平成 21 年 6 月

2. Y. Tanaka, M. Suzuki, H. Nakamura, S. Toyozumi, S. H. Zwillich. The oral Jak inhibitor CP-690,550 in combination with methotrexate is efficacious, safe and well tolerated in Japanese patients with active rheumatoid arthritis with an inadequate response to MTX alone. The Annual European Congress of Rheumatology 2009, Copenhagen 平成 21 年 6 月

3. Tanaka Y. Rheumatoid arthritis in the context of bone disease: a recent paradigm shift of the disease control. The 6th International Bone Biology Forum, Susono 平成 21 年 8 月

4. Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike. Can infliximab discontinue after attaining remission in patients with RA?: An interim report on RRR (remission induction by remicade in RA) study. The 4th Asian Congress on Autoimmunity, Singapore

平成 21 年 9 月

5. Y. Tanaka, T. Takeuchi, T. Mimori, N. Miyasaka, T. Koike. Discontinuation of infliximab after attaining low disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an interim report on RRR (remission induction by remicade in RA) study. The 73rd National Meeting of American college of Rheumatology, Philadelphia 平成 21 年 10 月

蒲池 誠 (研究分担者)

1. 井田 弘明, 荒牧 俊幸, 有馬 和彦, 川尻 真也, 岩本 直樹, 藤川 敬太, 蒲池 誠, 玉井 慎美, 中村 英樹, 折口 智樹, 川上 純, 右田 清志, 江口 勝美 TRAPS 全国調査と TRAPS が疑われた不明熱症例の検討(第3報) 2009 年 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会プログラム・抄録集 p237

2. 藤川 敬太, 川上 純, 川尻 真也, 岩本 直樹, 荒牧 俊幸, 蒲池 誠, 有馬 和彦, 玉井 慎美, 山崎 聡士, 中村 英樹, 塚田 敏明, 折口 智樹, 井田 弘明, 江口 勝美 神経ペーチェット病に対する infliximab の治療効果 2009 年 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会プログラム・抄録集 p217

3. 広瀬 めぐみ, 藤川 敬太, 川尻 真也, 岩本 直樹, 荒牧 俊幸, 蒲池 誠, 有馬 和彦, 玉井 慎美, 山崎 聡士, 中村 英樹, 折口 智樹, 井田 弘明, 川上 純, 江口 勝美 難治性ループス腸炎3症例の検討 2009 年 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会プログラム・抄録集 p362

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

・住田 孝之

申請準備中

・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)

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

Ⅱ. 本邦における抗リン脂質抗体症候群の診断基準の提唱
(案)

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

本邦における抗リン脂質抗体症候群の診断基準の提唱（案）

研究分担者 渥美 達也 北海道大学大学院医学研究科・内科学講座・第二内科 講師

研究要旨

臨床研究には抗リン脂質抗体症候群(APS)の Sapporo 分類基準シドニー改変が用いられているが、本分類基準をそのまま本邦の診断基準に応用することは困難である。それは、APS を定義する抗リン脂質抗体の研修法が多様であって標準化の途上であり、また本邦では日常臨床で実施困難な検査が含まれているからである。

そこで、APS の本邦における診断基準案を提唱する。国際分類基準を対象とした本診断基準案の評価を次年度におこなっていく予定である。

A. 研究目的

臨床研究には抗リン脂質抗体症候群(APS)の Sapporo 分類基準シドニー改変(国際分類基準)が用いられているが、本分類基準をそのまま本邦の診断基準に応用することは困難である。それは、APS を定義する抗リン脂質抗体の研修法が多様であって標準化の途上であり、また本邦では日常臨床で実施困難な検査が含まれているからである。

そこで、本邦の日常保険診療で可能な臨床検査のみを用いた APS の診断基準を提唱する。

B. 研究方法

国際分類基準の項目のうち、IgM 抗カルジオリピン抗体は測定キットは入手可であるが保険診療では検査ができない。IgG および IgM 抗β₂-グリアプロテイン I 抗体は、2010 年 2 月現在測定キットは本邦では未発売である。ループスアンチコアグラントは本邦では 2 種類の確認試験のみ保険診療でおこなうことができる。

そこで、保険診療でおこなうことができる検査項目として列記し、標準化されていない（すなわち測定キットとして入手できない）その他の検査のうち、当班もしくは他の臨床研究においてある程度有用性が評価されている検査を欄外に記載し、それらをオプションとしておこなっても診断可能であるとする。

(倫理面への配慮)

診断基準案なので、とくに倫理的に問題になる事項はない。

C. 研究結果

表 1 に提唱する本邦の APS 診断基準案を記載する。表 2 は APS 国際分類である。

D. 考察

今後は本診断基準案の検証をおこない、自己免疫斑としてのコンセンサスを得て公表する。

E. 結論

本邦での保険診療の現状にあった APS の診断基準案を提唱した。

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

表1 抗リン脂質抗体症候群の診断基準（案）

臨床所見

1. 血栓症

画像診断、ドップラー超音波検査または病理学的に確認されたもので、血管炎による閉塞を除く

2. 妊娠合併症

- a. 妊娠10週以降で、他に原因のない正常形態の子宮内胎児死亡、または
- b. 妊娠高血圧症、子癇または胎盤機能不全による妊娠34週以前の形態学的異常のない胎児の1回以上の早産、または
- c. 妊娠10週未満の3回以上連続した原因不明習慣流産

検査基準（抗リン脂質抗体）

- 1. IgG型抗 β 2-グリコプロテインI-カルジオリピン複合体抗体陽性^{*1}
- 2. IgG型抗カルジオリピン抗体陽性
- 3. 活性化トロンボプラスチン時間延長かつループスアンチコアグラント確認試験陽性^{*2}
- 4. 上記1-3で抗リン脂質抗体が確認できない場合、あるいは抗凝固療法施行中などで適切な血漿サンプルが得られない場合は、補助試験^{*3}で代用することができる

臨床所見の1項目以上が存在し、かつ検査項目のうち1項目以上が12週の間隔をあけて2回以上証明されるとき抗リン脂質抗体症候群と診断する。

*1 β 2-グリコプロテインI/カルジオリピン複合体への結合力価が標準値を超え、かつ β 2-グリコプロテインIが存在しない対照ウエルへの結合力価を上回るとき陽性とする

*2 活性化トロンボプラスチン時間またはラッセル蛇毒凝固時間を用いたリン脂質添加確認試験による

*3 補助試験には、IgM型抗カルジオリピン抗体、ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体、抗 β 2-グリコプロテインI抗体などがある（いずれも健保未収載）

表 2. 抗リン脂質抗体症候群国際分類基準（サッポロ基準のシドニー改変-2006）

臨床所見

1. 血栓症

画像診断、ドップラー超音波検査または病理学的に確認されたもので、血管炎による閉塞を除く

2. 妊娠合併症

- a. 妊娠 10 週以降で、他に原因のない正常形態の子宮内胎児死亡、または
- b. 妊娠高血圧症、子癇または胎盤機能不全による妊娠 34 週以前の形態学的異常のない胎児の 1 回以上の早産、または
- c. 妊娠 10 週未満の 3 回以上連続した原因不明習慣流産

検査基準

- 1. 標準化された ELISA 法による IgG または IgM 型抗カルジオリピン抗体（中等度以上の力価または健常人の 99%-tile 以上）
 - 2. IgG または IgM 型抗 $\beta 2$ -グリコプロテイン I 抗体陽性（健常人の 99%-tile 以上）
 - 3. 国際血栓止血学会のループルアンチコアグラントガイドラインに沿った測定法で、ループスアンチコアグラントが陽性
-

臨床所見の 1 項目以上が存在し、かつ検査項目のうち 1 項目以上が 12 週の間隔をあけて 2 回以上証明されるとき抗リン脂質抗体症候群と分類する。

Ⅲ. 研究分担報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

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

研究分担者 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、岡村 僚久、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 (1) SLE の病因解明や治療法開発に腎臓浸潤 CD4⁺ T 細胞の自己抗原反応性および病原性の解析は有益と考えられる。腎炎発症早期 MRL/lpr マウス腎臓の CD5^{high}TCR^{high}CD4⁺ T 細胞集団は IFN- γ 発現細胞を含んでいた。単一細胞解析により 2 組の IFN- γ 発現 CD4⁺ T 細胞の TCR α/β 鎖(MLK2 と MLK3)を同定した。In vitro でこれらの TCR 機能を再構築した CD4⁺ T 細胞は脾臓樹状細胞に反応し増殖した。MLK3 再構築 CD4⁺ T 細胞を腎炎発症前 MRL/lpr マウスに養子移入すると脾臓で増殖し、自己抗体価を上昇させることなく腎炎発症を促進した。この実験結果は腎炎発症早期の MRL/lpr マウス腎臓に浸潤する IFN- γ 発現 CD4⁺ T 細胞が腎炎の進展に関与しうることを示唆する。

(2) 分担研究者らはこれまでに IL-10 を高産生する CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺T 細胞を同定し、この細胞集団がマウスの腸炎を抑制する活性をもつ新たな制御性 T 細胞であることを見出した。腎炎発症前 NZB/W F₁ マウス及び NZW マウスにおいて、CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺T 細胞の減少がみられ、CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺T 細胞の数は遺伝的に規定されている可能性が考えられた。SLE モデルマウスにおける CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺細胞の機能解析は、SLE の病態解明への新たなアプローチとなる可能性がある。

A. 研究目的

(1) SLE において CD4⁺ T 細胞は自己免疫応答形成に重要な役割を担うが、腎臓に浸潤する CD4⁺ T 細胞の腎炎への直接の関与は未だに解明されていない。腎臓に存在するサイトカイン発現 CD4⁺ T 細胞は病態形成に重要な役割を果たすと考えられ、その反応性および病原性の解析は、SLE の病因解明や治療法開発に有益と考えられる。SLE モデルマウス MRL/lpr を用い、SLE 発症早期に腎臓に浸潤する CD4⁺T 細胞の解析を行う。

(2) SLE モデルマウスの自己免疫応答形成において、新しい制御性 T 細胞サブセット IL-10 産生 CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺T 細胞の果たす役割を検討する。

B. 研究方法

(1) 腎臓および脾臓 CD4⁺ T 細胞の IFN- γ 発現と細胞表面の CD5 分子発現の相関をフローサイトメトリーで解析した。腎炎発症早期マウスの腎臓 CD5^{high}TCR^{high}CD4⁺ T 細胞の単一細胞解析を行った。cDNA を合成後、nested PCR により IFN- γ 発現 CD5^{high}TCR^{high}CD4⁺ T 細胞の TCR α/β 鎖を同定した。レトロウイルスベクターを用いてこれらの

TCR 機能を CD4⁺ T 細胞に再構築し、腎炎発症前 MRL/lpr マウスに移入した。

(2) NZB/W F₁ マウスの CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺T 細胞につき、フローサイトメトリーおよび real time PCR を用いて解析を行った。

(倫理面への配慮)

実験動物に対しては東京大学動物実験施設アニュアルに沿い、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

(1) 腎炎発症早期 MRL/lpr マウス腎臓の CD5^{high}TCR^{high}CD4⁺ T 細胞集団には IFN- γ 分泌細胞が含まれていた。単一細胞解析を行い、2 組の IFN- γ 発現 CD4⁺ T 細胞の TCR α/β 鎖(MLK2 と MLK3)を同定した。in vitro で MLK2 と MLK3 再構築 CD4⁺ T 細胞は脾臓の樹状細胞に反応した。MLK3 再構築 CD4⁺ T 細胞は腎炎発症前 MRL/lpr マウスの脾臓で増殖した。この再構築した細胞を腎炎発症前 MRL/lpr マウスに養子移入すると自己抗体価を上昇させることなく腎炎発症が促進された。

(2) 若齢および腎炎発症前 NZB/W F₁ マウスでは、C57BL/6 マウスと比較して脾臓の

CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺T 細胞が有意に減少していた。NZW マウスの CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺T 細胞も有意に減少している。C57BL/6 マウスと若齢 NZB/W F₁ マウスの CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺T 細胞は同様の mRNA 発現パターンを示し、明らかな質的差異を認めなかった。

D. 考察

- (1) 腎炎早期に腎臓で刺激を受けサイトカインを分泌する CD4⁺T 細胞の TCR 機能を遺伝子導入にて再構築した細胞は、腎炎発症前の脾臓で刺激を受け、腎炎発症を促進した。このことは MRL/lpr マウスの腎炎においてオリゴクローナルに増殖している CD4 陽性 T 細胞が重要な役割を果たしていることを示唆している。実際に生体内の炎症局所に存在する自己反応性 T 細胞の動態の解析は、自己免疫現象の解明および新規治療法の開発に有用と考えられる。
- (2) 腎炎発症前 NZB/W F₁ マウス及び NZW マウスにおいて CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺T 細胞の減少がみられ、CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺T 細胞の数は遺伝的に規定されている可能性が考えられた。

E. 結論

(1)腎炎発症前の脾臓で刺激を受けた CD4⁺T 細胞が腎炎の病態形成に関与する可能性が示唆された。(2) NZB/W F₁ マウスにおける CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺制御性 T 細胞の減少がグループの病態に寄与するか検討を要する。SLE モデルマウスにおける CD4⁺CD25⁻LAG-3⁺細胞の機能解析は、病態解明への新たなアプローチとなる可能性がある。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada Y, Suzuki A, Yamada R, Kochi Y, Shimane K, Myouzen K, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. HLA-DRB1*0901 lowers anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009 Oct 22 [Epub ahead of print].

2. Shimane K, Kochi Y, Horita T, Ikari K, Amano H, Hirakata M, Okamoto A, Yamada R, Myouzen K, Suzuki A, Kubo M, Atsumi T, Koike T, Takasaki Y, Momohara S, Yamanaka H, Nakamura Y, Yamamoto K. The association of a nonsynonymous single-nucleotide polymorphism in TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Arthritis Rheum.* 62:574-579, 2010.

3. Kogina K, Shoda H, Yamaguchi Y, Tsuno NH, Takahashi K, Fujio K, Yamamoto K. Tacrolimus differentially regulates the proliferation of conventional and regulatory CD4(+) T cells. *Mol Cells.* 28:125-30, 2009.

4. Okamura T, Fujio K, Shibuya M, Sumitomo S, Shoda H, Sakaguchi S, Yamamoto K. CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells controlled by the transcription factor Egr-2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106:13974-9, 2009.

5. Okada Y, Yamada R, Suzuki A, Kochi Y, Shimane K, Myouzen K, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. Contribution of a haplotype in the HLA region to anti-cyclic citrullinated peptide antibody positivity in rheumatoid arthritis, independently of HLA-DRB1. *Arthritis Rheum.* 60:3582-90, 2009.

6. Kochi Y, Myouzen K, Yamada R, Suzuki A, Kurosaki T, Nakamura Y, Yamamoto K. FCRL3, an autoimmune susceptibility gene, has inhibitory potential on B-cell receptor-mediated signaling. *J Immunol.* 183:5502-10, 2009.

2. 学会発表

1. Okamoto A, Fujio K, Tsuno NH, Takahashi K, Yamamoto K. Analysis of Kidney CD4+ T cells in lupus-prone mice. *Imflammation Research.* 58:S168, 2009.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

「抗リン脂質抗体スコア」と血栓症発症リスクに関する研究

研究分担者 渥美 達也 北海道大学大学院医学研究科・内科学講座・第二内科 講師
研究協力者 大友耕太郎 北海道大学大学院医学研究科・内科学講座・第二内科

研究要旨 抗リン脂質抗体症候群 (APS) の診断には Sapporo 分類基準シドニー改変を用いるが、抗体の陰性または陽性の定性的評価のみで、抗体価の大小や抗体の多寡という定量的評価は行われなかった。我々は多数の抗リン脂質抗体を同時に測定し、それらを一元的に定量化（点数化）した「抗リン脂質抗体スコア（aPL-S）」を定義し、APS 診断マーカーとして有用であることを示した。今回、aPL-S が血栓症リスクを示すマーカーとなりうるか、後ろ向き観察研究を行った。対象は 2002 年から 2003 年に当科を受診し、抗リン脂質抗体を測定した患者 411 名。2009 年まで後ろ向き追跡し、血栓症等について調査を行い、aPL-S との関連を調べた。2 年以上フォロー可能であった症例は 302 名 (73.4%) であり、平均観察期間は 67.7 ± 14.9 月であった。期間中に 32 名が血栓症を、11 名が出血合併症を発症した。aPL-S が 30 点以上の患者は 39 名で、うち 34 例 (87%) で抗血栓治療がおこなわれていたにも関わらず、12 名 (31%) に新規血栓症を認めた。aPL-S が 30 点以上の場合、血栓症の相対危険度は 5.40 [95%CI: 2.38-12.23] で有意に高値であった。以上より、aPL-S は血栓症発症リスクのマーカーであり、抗リン脂質抗体症候群の予後を推定させる可能性が示唆された。

A. 研究目的

抗リン脂質抗体は多様な自己抗体群である。抗リン脂質抗体症候群 (APS) の診断には通常 Sapporo 分類基準シドニー改変を用いるが、抗体の陰性または陽性の定性的評価のみで、抗体価の大小や抗体の多寡という定量的評価は行われぬ。一方、感染症や悪性疾患の場合に検出されるループスアンチコアグラントを代表として、抗リン脂質抗体には非特異的な抗体も多く含まれ、「1 つかそれ以上の抗リン脂質抗体が陽性」で APS を定義してしまうことに多くの問題点が指摘されている。そこで、当施設では多数の抗リン脂質抗体を同時に測定し、それらを一元的に定量化（点数化）した「抗リン脂質抗体スコア（aPL-S）」を定義し、APS 診断を総合的、定量的に評価する有用なマーカーとなることを見出した。今回、aPL-S が血栓症リスクを示すマーカーとなりうるか、後ろ向き観察研究を行った。

B. 研究方法

対象は 2002 年から 2003 年に当科を受診し、抗リン脂質抗体を測定した患者 411 名。2009 年まで

後ろ向き追跡し、血栓症、出血合併症等について調査を行い、aPL-S との関連を調べた。全患者のループスアンチコアグラント (aPTT 法、ラッセル蛇毒凝固時間法、カオリン凝固時間法)、IgG/M 抗カルジオリピン抗体、IgG/M 抗 β 2-グリコプロテイン I (β 2-GP I) 抗体、IgG/M ホスファチジルセリン依存性抗プロトロンビン抗体を測定し、各患者の「抗リン脂質抗体スコア (aPL-S)」を計算した。2 年以上追跡可能な症例を有効症例とした。

(倫理面への配慮)

個人情報の管理には細心の注意をはらった。

C. 研究結果

2 年以上フォロー可能であった症例は 302 名 (73.4%) であり、平均観察期間は 67.7 ± 14.9 月であった。期間中に 32 名が血栓症を、11 名が出血合併症を発症した。aPL-S が 30 点以上の患者は 39 名で、うち 34 例 (87%) で抗血栓治療がおこなわれていたにも関わらず、12 名 (31%) に新規血栓症を認めた。aPL-S が 30 点以上の場合、血栓症の相対危険度は 5.40 [95%CI: 2.38-12.23] で有意に

高値であった。また抗血栓療法を反映して6名(15.4%)に出血合併症を認め、出血合併症の相対危険度は9.38[95%CI:2.71-32.45]であった。

D. 考察

aPL-Sは血栓症のリスクを示すマーカーとなる可能性が示された。すなわち、aPL-Sが高値の患者群で、観察期間中にあらたに血栓症を発症することが多いことが今回の後ろ向き観察研究で明らかとなった。今回は後ろ向き検討による結果であり、真の予後(リスク)とaPL-Sの関係について論じるためには今後の前向き検討が必要である。本スコアを普及させ、一般診療に応用するためには、個々の抗リン脂質抗体検査の標準化が必要なことはいうまでもなく、コストや汎用性と効率を考えたスコア自体の再編も必要と考えている。

E. 結論

aPL-Sは血栓症発症リスクのマーカーであり、抗リン脂質抗体症候群の予後を推定させる可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

<著書>

1. Amengual O, Atsumi T, Koike T. Antiphospholipid antibodies and the Antiphospholipid syndrome, In: Columbus F editor. *New Research on Autoantibodies*. NY: Nova Science Publishers (in press)

2. Atsumi T, Amengual O, Koike T. Antiphospholipid syndrome: pathogenesis. In: Lahita RG, editor. *Systemic Lupus Erythematosus 5th edition*. San Diego: Academic Press (in press).

<論文>

1. Shimane K, Kochi Y, Horita T, Ikari K, Amano H, Hirakata M, Okamoto A, Yamada R, Myouzen K, Suzuki A, Kubo M, Atsumi T, Koike T, Takasaki Y, Momohara S, Yamanaka H, Nakamura Y, Yamamoto K. The association of a non-synonymous SNP in the TNFAIP3 gene with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Arthritis*

Rheum (in press)

2. Bohgaki M, Matsumoto M, Atsumi T, Kondo T, Yasuda S, Horita T, Nakayama KI, Okumura F, Hatakeyama S, Koike T. Plasma gelsolin facilitates interaction between $\beta 2$ glycoprotein I and $\alpha 5 \beta 1$ integrin. *J Cell Mol Med* (in press)

3. Fukae J, Kon Y, Henmi M, Sakamoto F, Narita A, Shimizu M, Tanimura K, Matsuhashi M, Kamishima T, Atsumi T, Koike T. Change of Synovial Vascularity in Single Finger Joint assessed by Power Doppler sonography correlated with radiographic change in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* (in press)

4. Yamada H, Atsumi T, Amengual O, Koike T, Furuta I, Ohta K, Kobashi G. Anti-beta2 glycoprotein-I antibody increases the risk of pregnancy-induced hypertension: a case-control study. *J Reprod Immunol* (in press)

5. Horita T, Atsumi T, Yoshida N, Nakagawa H, Kataoka H, Yasuda S, and Koike T. STAT4 single nucleotide polymorphism, rs7574865 G/T, as a risk for antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 68, 1366-7, 2009

6. Bohgaki T, Atsumi T, Bohgaki M, Furusaki A, Kondo M, Sato-Matsumura K, Abe R, Kataoka H, Horita T, Yasuda S, Amasaki Y, Nishio M, Sawada K, Shimizu H, Koike T. Immunological reconstitution after autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with systemic sclerosis: relationship between clinical benefits and intensity of immunosuppression. *J Rheumatol* 36, 1240-8, 2009

7. Yamada H, Atsumi T, Kobashi G, Ota C, Kato EH, Tsuruga N, Ohta K, Yasuda S, Koike T, Minakami H. Antiphospholipid antibodies increase the risk of pregnancy-induced hypertension and adverse pregnancy outcomes. *J Reprod Immunol* 79, 188-95, 2009.

8. Harris AA, Kamishima T, Horita T, Atsumi T, Fujita N, Omatsu T, Onodera Y, Terae S, Koike T, Shirato H. Splenic Volume in Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 18, 1119-20, 2009.

9. Sakai Y, Atsumi T, Ieko M, Amengual O,

Furukawa S, Furusaki A, Bohgaki M, Kataoka H, Horita T, Yasuda S, Koike T. The effects of phosphatidylserine dependent antiprothrombin antibody on thrombin generation. *Arthritis Rheum* 60, 2457-67, 2009

10. Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Tada Y, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Takahashi H. Cigarette smoking, STAT4 and TNFRSF1B polymorphisms, and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *J Rheumatol* 36, 2195-203, 2009

11. Nakagawa H, Yasuda S, Matsuura E, Kobayashi K, Ieko M, Kataoka H, Horita T, Atsumi T, Koike T. Nicked beta2-glycoprotein I binds angiostatin4.5 (plasminogen kringle 1-5) and attenuates its anti-angiogenic property. *Blood* 114, 2553-9, 2009.

12. Koike R, Harigai M, Atsumi T, Amano K, Kawai S, Saito K, Saito T, Yamamura M, Matsubara T, Miyasaka N. Japan College of Rheumatology 2009 guidelines for the use of tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody, in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 19, 351-7, 2009

13. Oku K, Atsumi T, Bohgaki M, Kataoka H, Horita T, Yasuda S, Koike T. Complement activation in patients with primary antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 68; 1030-5, 2009

2. 学会発表

1. Atsumi T, Amengual O, Miyamoto E, Oku K, Kataoka H, Yasuda S, Horita T, Koike T.

Antiprothrombin antibodies and thrombophilia in the antiphospholipid syndrome. The 4th Asian congress on autoimmunity, Singapore, 11-13 Sep. 2009.

2. Otomo K, Atsumi T, Fujieda Y, Kato M, Miyamoto E, Oku K, Amengual O, Kataoka H, Horita T, Yasuda S, Koike T. Antiphospholipid Score (aPL-S) in the Antiphospholipid Syndrome: Diagnostic Significance and Predictive Value for the Development of Thrombotic Events in Autoimmune Diseases The 73rd annual meeting of the

American College of Rheumatology, Philadelphia, 18-21 Oct. 2009

3. Horita T, Nakagawa N, Oku K, Kataoka H, Yasuda S, Atsumi T, Koike T. Lupus Susceptible Gene Polymorphisms in Patients with Antiphospholipid Syndrome. American College of Rheumatology 73rd Annual Scientific Meeting, Philadelphia, USA, 18-21 Oct. 2009

4. Oku K, Atsumi T, Amengual O, Fujieda Y, Otomo K, Kato M, Kataoka H, Horita T, Yasuda S, Koike T. Arterial disease and phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody (aPS/PT): *in vitro* behavior of platelets treated with monoclonal aPS/PT. American College of Rheumatology 73rd Annual Scientific Meeting, Philadelphia, USA, 18-21 Oct. 2009

5. Kato M, Horita T, Atsumi T, O Amengual, Nakagawa H, Fujieda Y, Otomo K, Oku K, Kataoka H, Yasuda S, Koike T. Association between CD36 single nucleotide polymorphism and antiphospholipid syndrome. American College of Rheumatology 73rd Annual Scientific Meeting, Philadelphia, USA, 18-21 Oct. 2009

6. Amengual O, Atsumi T, Suzuki E, Oku K, Hashimoto T, Kato M, Otomo K, Fujieda Y, Kataoka H, Horita T, Yasuda S and Koike T. Up-regulated expression of Phospholipid Scramblase 1 on monocytes in patients with antiphospholipid syndrome. American College of Rheumatology 73rd Annual Scientific Meeting, Philadelphia, USA, 18-21 Oct. 2009.

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

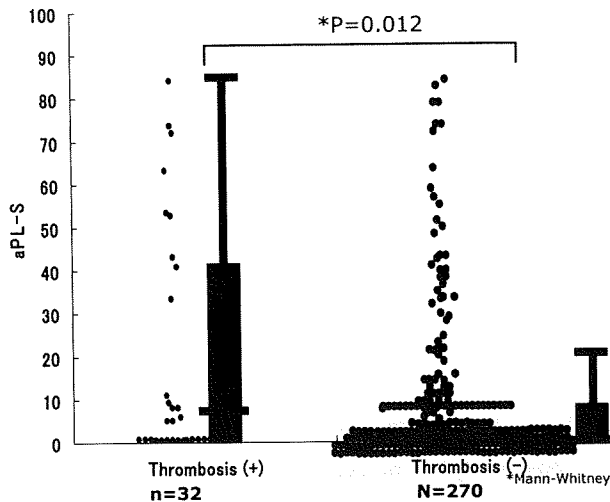


図1 抗リン脂質抗体の症状を有する患者（32名）と有さない患者（270名）の抗リン脂質抗体スコア(sPL-S)の分布。

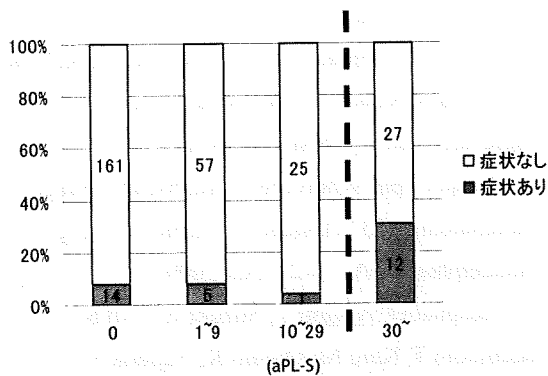


図2 aPL-S の得点群ごとの血栓症を発症した患者の割合。30点以上ではおよそ30%に新規血栓症を認めた。aPL-Sのカットオフを30点に設定すると相対危険度は5.40[95%CI:4.70-30.3]であり、有意に高値であった。

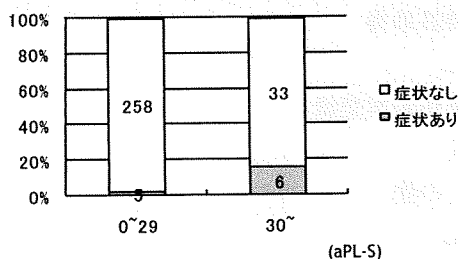


図3 aPL-S 得点群ごとの出血合併症を発症した患者の割合。aPL-S30点以上の場合、(抗血栓療法を反映して)全体の15.4%に出血合併症を認めた。相対危険度は9.38[95%CI:2.71-32.45]であった。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

膠原病関連クリオグロブリン血症の病態発生に必要な免疫シグナルに関する研究

研究分担者 小野 栄夫 東北大学病理形態学分野 教授

A. 研究目的

クリオグロブリン（CrG）は膠原病やC型肝炎ウイルスに関連して発生する特殊な免疫グロブリンであり、血管炎や腎炎の病態に関わる病原性を有することがある。本研究では、CrG血症をSLE様症状に伴って発症する膠原病モデルマウスMRL/lprを用いて、CrG血症に関連する遺伝的要因についての解析を行う。

B. 研究方法

CrG血症を発症するMRL/lprと同遺伝背景にsignaling lymphocyte activation molecule (SLAM)-associated protein (SAP)遺伝子欠損を持つMRL/rplマウス、ならびに正常対象としたMRL/+マウス、Fas遺伝子欠損を持ちながら背景遺伝子を異にするC3H/lprマウス、さらには、MRL/rplとC3H/lprの交配から生じたF2マウスの血清を採取し、そこから出井らの方法に準じて、低温条件下でクリオグロブリン分画と上清分画を分離した。ELISA法により各分画のIgG量を測定した。また、F2マウスを用いて、CrG発症に関連する染色体領域を、マイクロサテライト多型連鎖解析により求めた。

C. 研究結果

CrG血症の量的形質はSAP変異に有意に連鎖することが分かった。また、5番染色体上にMRL系統固有の背景遺伝子との弱い連鎖を同定しており、候補遺伝子の検索を行っている。

D. 考察

CrGは免疫グロブリン（Ig）組成により3タイプに分けられる。そのうちタイプIIとタイプIIIは非単クローン性Igを成分とするもので、膠原病やC型肝炎ウイルス感染と関係が深いとされる。本研究に観察したCrGモデルは、SLE病態に合併するタイプIII CrGに相当するとされる。タイプIII CrG発生にSAPを介したリンパ球（間）シグナルを必要としていることが示された。

E. 結論

SLAMファミリー受容体からのシグナル伝達がCrG血症発症に必要である。

F. 健康危機情報

特記すべきことなし。

G. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

全身性エリテマトーデス患者血清由来抗血管内皮細胞抗体の対応抗原に関する研究

研究分担者 石井 智徳 東北大学医学部血液免疫科 准教授
研究協力者 藤井 博司 東北大学医学部血液免疫科 助教

研究要旨 レトロウイルスベクターによる蛋白発現系を用い、ヒト臍帯静脈内皮細胞由来（以下 HUVEC）cDNA library から全身性エリテマトーデス（以下 SLE）患者血清中に存在する抗血管内皮細胞抗体（以下 AECA）の対応抗原を検索し、膜型蛋白 fibronectin leucin-rich transmembrane 2 (FLRT2)を血管内皮細胞に対する新規自己抗原候補として同定した。

A. 研究目的

SLE 患者血清中に、AECA 活性を持つ抗体が存在することは以前より知られているが、その対応抗原についてはコンセンサスが得られているものはない。本研究では、SLE 患者血清中の AECA、特に血管内皮細胞表面に結合する抗体を用いて、膜表面存在する自己抗原を同定することを目的とした。

B. 研究方法

①活動期 SLE 患者より血清を得、更に同血清より免疫グロブリンをプロテイン A/G カラムを用いて分離した。得られた分離免疫グロブリン中に存在する IgG の HUVEC への結合を FITC-anti-human IgG を 2 次抗体として染色し、フローサイトメトリーにて確認した。この中より強い AECA 活性を持つ患者血清由来 IgG をスクリーニングし、その後の実験に使用した。

②次いで、HUVEC cDNA ライブラリーを作成し、レトロウイルスベクター pMX に組み込んだ。得られた HUVEC cDNA library をレトロウイルスベクターによりラットミエローマの cell line に遺伝子導入発現させた。

③上記①で定めた AECA 活性を持つ IgG を 1 次抗体、FITC-anti-human IgG を 2 次抗体として用いて遺伝子発現した cell line を染色した。フローサイトメトリーを用いた cell sorting にて AECA の結合する細胞を分離後、限界希釈法により AECA 結合たんぱくを発現している細胞をクローニングした。クローニング後、得られた細胞が発現している HUVEC 由来の遺伝子を、ウイルスベクターに

組み込んだ際用いた配列を利用した PCR 法によりクローニングし、同塩基配列をシーケンスにより決定した。

（倫理面への配慮）

東北大学の倫理規定に基づき実験計画書の承認を受けておこなった。

C. 研究結果

HUVEC に反応する、AECA 活性を持つと考えられる SLE 患者血清および分離した IgG を数症例分えた。そのなかから強い AECA 活性をもつ E10-19 を prototype AECA と定めた。E10-19 は活動期 SLE 患者由来血清から得た抗体であり、治療後、SLE 非活動期における同患者由来血清の AECA 活性は減弱し、疾患活動性と相関する抗体であると考えられた。E10-19 IgG をプローブとして、ラットミエローマ細胞発現させた HUVEC cDNA ライブラリーから発現クローニングを行い、AECA 結合たんぱくを stable に発現している cell line を 3 種類得た。これらクローンより、遺伝子導入された HUVEC cDNA を、PCR 法を用いて得たところ、その中の一つのクローンが膜型蛋白 fibronectin leucin-rich transmembrane 2 (以下 FLRT2)を mRNA レベルで大量に発現していることが確認された。さらに FLRT2 全長を発現ベクターに組み込み、293T 細胞に遺伝子導入することによりタンパクの強制発現をおこない、これら発現たんぱくが E10-19 抗体と強く結合することを確認した。

D. 考察

AECA の対応抗原に関しては、Heat Shock Protein などの報告があるが、いままで対応抗原の候補とされたタンパク質は、ほとんどが本来細胞膜に存在せず特殊な条件下に膜表面に表出してくる細胞内タンパクであった。今回、われわれが得た新規自己抗原候補タンパク質である FLRT2 は元来、膜型蛋白であり、これまでの AECA 対応候補のタンパク質とは性質が異なる。また FLRT2 は、構造的な面での特異性とどまらず、機能的にも、詳細はいまだ不明ではあるものの、FGF レセプターの co-signaling 分子や接着分子として機能することが報告されており、自己抗原候補として他の AECA 対応抗原候補にない特徴をもつ。これら特徴から、FLRT2 は単に自己抗体の対応タンパクとして抗体の結合による障害を引き起こすための標的となるのみならず、自己抗体によりクロスリンクされることにより、血管内皮細胞に対し種々の生物学的活性を引き起こす、シグナルを細胞内に伝達するレセプターとしての機能を果たす可能性がある。今後、FLRT2 のさらなる詳細な機能の解析と、またその機能に与える自己抗体の作用を解明することによって、全身性エリテマトーデスにおける血管病変の新たな病変形成機序を解明できる可能性がある。

E. 結論

レトロウィルスベクターを用いた発現クローニング系を用い、HUVEC cDNA ライブラリーより SLE 患者由来抗血管内皮細胞抗体の対応抗原として、膜蛋白 FLRT2 を同定した。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hirabayashi Y, Ishii T.

Clinical efficacy of tocilizumab in patients with active rheumatoid arthritis in real clinical practice. Rheumatol Int. E pub. 2009.

2. Tsuyoshi Shirai, Reiko Takahashi, Yumi Tajima, Tomonori Ishii, Hideo Harigae

Peripheral T Cell Lymphoma with a High Titer of

Proteinase-3-Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies that Resembled Wegener's Granulomatosis. Intern Med 2009 48 2041-2045

2. 学会発表

1. 石井智徳, 白井剛史, 藤井博司, 張替秀郎 膠原病の病態解明と治療最前線 大型血管の画像診断

第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会

2. 高澤徳彦, 白井剛志, 田島結実, 高橋令子, 藤井博司, 石井智徳, 張替秀郎

心筋、大動脈壁に病変を呈した特発性好酸球增多症候群の 1 例

第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会

3. 白井剛志, 田島結実, 高橋令子, 藤井博司, 高澤徳彦, 石井智徳, 張替秀郎

眼球突出、PR3-ANCA 高値を呈し Wegener 肉芽腫との鑑別を要した T 細胞リンパ腫の一例

第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会 第 18 回国際リウマチシンポジウム

4. Kobayashi Masahiro, Irie Erika, Shirota Yuko, Suzuki Chihiro, Onishi Yasushi, Okitsu Youko, Yamamoto Joji, Ishizawa Kenichi, Kameoka Junichi, Ishii Tomonori, Harigae Hideo

Severe hypogammaglobulinemia after rituximab chemotherapy due to the arrest of B cell differentiation

第 71 回日本血液学会学術集会

5. 渡辺龍, 白井剛志, 田島結実, 藤井博司, 高澤徳彦, 大口裕人, 大西康, 石井智徳, 張替秀郎

産褥期に TTP を発症した抗セントロメア抗体陽性の一例

第 19 回日本リウマチ学会 北海道・東北支部学術集会

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（難治性疾患克服研究事業）
研究分担報告書

膠原病における IL-33/ST2L システムに関する研究

研究分担者 岡崎 仁昭 自治医科大学医学教育センター・内科学講座アレルギー膠原病学部門 教授

研究要旨 全身性エリテマトーデス (SLE) の活動期においては、主に血中の T 細胞を介した IL-33/ST2L システムの活性が認められ、治療後に血中 ST2 が上昇することで炎症を終息に向かわせる、という機序が予測された。IL-33/ST2L システムの役割が解明できれば、新たな分子標的療法のターゲットになる可能性を秘めている。

A. 研究目的

ST2 はインターロイキン 1 (IL-1) 受容体ファミリーに属する蛋白の一つでスプライシングの違いにより分泌型 ST2 と膜貫通受容体型 ST2L が存在する。最近、IL-33 が ST2L のリガンドであることが報告された。IL-33/ST2L (炎症亢進) と分泌型 ST2 (炎症抑制) との役割が、基礎的な研究により明らかになってきた。

今回、我々は膠原病における IL-33/ST2L システムの役割を解析し、新たな分子標的療法に成り得るか否かを探索する。

B. 研究方法

当科へ入院した初発かつ未治療の膠原病患者を対象に、血清 IL-33、ST2 濃度を ELISA にて測定した。測定は経時的に行った。また、活動期の SLE における CD4+T 細胞上の ST2L の発現を FACS にて測定した。

(倫理面への配慮)

当大学の規定に沿って行った。

C. 研究結果

血清 IL-33 と ST2 濃度は、SLE において他の膠原病と比較していずれも高値を示した。治療後には血清 IL-33 濃度の低下と ST2 濃度の更なる上昇とが見られ、寛解期にはいずれも低値を示した。活動期の SLE において、CD4+T 細胞上の ST2L の発現亢進を認めた。

D. 考察

SLE においては、活動期の IL-33/ST2L システ

ムの活性と、治療後の ST2 による抗炎症作用が予測された。今後は SLE における IL-33 の発現機序、ST2L と ST2 の発現制御について検証を行う予定である。

E. 結論

SLE における IL-33/ST2 システムの役割が解明できれば、新たな分子標的療法のターゲットになる可能性を秘めている。

F. 健康危険情報

特記すべきことはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsuyama Y, Okazaki H, Tamemoto H, et al. Increased Levels of Interleukin 33 in Sera and Synovial Fluid from Patients with Active Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 2010;37:18-25.
2. Hayakawa M, Hayakawa H, Matsuyama Y, Tamemoto H, Okazaki H, Tominaga S. Mature interleukin-33 is produced by calpain-mediated cleavage in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;387:218-22.
3. 木村洋貴, 岡崎仁昭. 総合内科専門医の育成のために リウマチ膠原病を守備領域にするために(解説). *日本内科学会雑誌* 2009;98:1417-23.

学会発表

1. 松山泰、岡崎仁昭、木村洋貴、長嶋孝夫、簗田清次。全身性エリテマトーデスにおける ST2 および ST2L の解析。第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会、2008 年 6 月 13 日、東京
2. 松山泰、岡崎仁昭、長嶋孝夫、岩本雅弘、吉尾卓、簗田清次。血清 ST2 濃度は様々な自己免疫性疾患で上昇するが、経時的変化は疾患によって異なる。第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2008 年 11 月 28 日、東京
3. 松山泰、岡崎仁昭、為本浩至、岩本雅弘、富永眞一、簗田清次。リウマチ血清および関節液での IL-33 測定系の確立と疾患活動性との相関。第 32 回日本分子生物学会、2009 年 12 月 10 日、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

特記すべきことはない。

2. 実用新案登録

特記すべきことはない。

3. その他

特記すべきことはない。