

201023006A

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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 住田 孝之

平成23(2011)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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 住田 孝之

平成23(2011)年3月

目 次

I	構成員名簿	1
II	平成22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	10
	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	12
	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	14
	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	
	TREM1 及びそのリガンド修飾による免疫疾患制御法の開発	17
	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（関節リウマチにおける R a s G R P 4 の 発 現 検 討）	19
	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	

	関節炎モデルにおける MR1 拘束性 MAIT 細胞の役割に関する研究……………	24
	国立精神・神経センター神経研究所 免疫研究部 山村 隆	
	CD4 陽性 CD25 陰性 LAG3 陽性制御性 T 細胞の抗体産生抑制能に関する研究……………	26
	東京大学医学部アレルギーリウマチ内科 藤尾 圭志	
	SLE モデルにおける抗 BLC 中和抗体の治療効果に関する研究……………	28
	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……	30
	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 ……………	33
V	平成 22 年度班会議プログラム ……………	41
VI	研究成果刊行物・別刷 ……………	43

I 平成22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 藤尾 圭志	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 東京大学医学部アレルギーリウマチ内科	准教授 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	梅村 定延	筑波大学 医学系支援室 外部資金会計係 TEL 029-853-3028 FAX 029-853-6309 e-mail : umemura.sadanobu.fe@un.tsukuba.ac.jp	

II 平成22年度総括研究報告

平成 22 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

免疫疾患の発症機序の全貌がいまだ明らかにされていないために疾患特異的な治療がなく副腎皮質ホルモンや免疫抑制薬による非特異的な治療法が中心である。そのために、感染症や腫瘍併発などの副作用が認められ患者の quality of life (QOL) の低下、医療費の高騰化が社会問題にもなってきた。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。このような疾患特異的な治療により、効率的かつ安全性の高い医療が普及することとなり、患者の QOL の改善、医療費の節約化につながると期待される。

本プロジェクトにおける具体的な研究テーマは以下のように考えている。
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 の活性化や炎症性サイトカイン産生を促進する TREM1-TREM1-L 相互作用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 細胞、TH2 細胞、TH17 細胞を標的とした制御戦略の開発（高橋、住田）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）、もう一つの調節機能を有する 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。B 細胞ケモカイン・ケモカイン受容体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 低下の一因となっている。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。厚生労働省の特定疾患対策として、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)サイトカイン産生を促進するTREM1-TREM1-L相互作用を抑制する抗体を作成し、感染症などの副作用の無い関節炎治療薬を開発する(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と治療法開発(藤尾)、9)抗BLC抗体によるB細胞ケモカイン・ケモカインレセプター阻害を介した治療戦略開発(石川)、10)自己抗体産生機序の解析と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)シェーグレン症候群や関節リウマチを対象として、自己反応性T細胞エピトープ(M3R、CII、GPI)のアナログペプチドを選定し、それぞれのモデルマウス(M3R誘導唾液腺炎マウス、コラーゲン誘導関節炎マウス、GPI誘導関節炎マウス)を用いてin vivoでの抗原特異的治療戦略を検定した。2)T-betトランスジェニックマウス(TH1マウス)、ROR γ Tトランスジェニックマウス(TH17マウス)を用いて自己免疫性関節炎、自己免疫性唾液腺炎などの発症機序を解析した。
2. (高橋) ROR γ Tトランスジェニックマウス(TH17マウス)においてサイトカイン産生および抗体産生について、GATA-3トランスジェニックマウス(TH2マウス)およびT-betトランスジェニックマウス(TH1マウス)においてDSS投与による潰瘍性大腸炎への影響を検討した。
3. (小安) 1)in vitroにおいて樹上細胞(DC)をTLRリガンドで刺激して産生サイトカインについて検討した。2)CpGおよびsymosanによりDCを刺激して細胞移入することによりCIAへの影響を検討した。3)IL-15ノックアウトマウス由来DCを細胞移入して

CIAを検討した。

4. (松本) 1)TIARPノックアウトマウスを作製しCIAについて検討した。2)関節リウマチ患者血清において、環状シトルリン化GPI(CCG)抗体の検出と臨床的意義について検討した。
5. (上阪) 1)新規TREM1-L発現細胞からcDNAライブラリーをスクリーニングして新しいTREM1-L分子を同定した。2)同分子に対するモノクローナル抗体を作成してCIAに対する予防、治療効果を検討した。
6. (小池) 1)RA患者末梢単球においてRasGRP4mRNA発現およびスプライスバリエーションの存在をreal time PCR法で検討した。2)同様にRasGRP蛋白量発現についてWesternブロット法により検討した。
7. (山村) DBA/1マウスにバッククロスしたMRIノックアウトマウスを作製して、CIAおよび抗CII抗体投与による自己免疫性関節炎について検討した。
8. (藤尾) 1)MRL/lprマウスにCD4+CD25-LAG3+Treg細胞を移入しSLE病態に対する影響を解析した。2)in vitroおよびin vivoにおいて抗NP抗体産生に対する上記細胞の機能を解析した。
9. (石川) B細胞ケモカイン(BLC/CXCL13)に対する抗BLC抗体をBWF1マウスに腹腔内投与してSLE病態の治療効果について検討した。
10. (田中) 1)BCR架橋、sCD40L、CpG-ODN(TLR9のリガンド)により、B細胞の活性化、増殖に対する影響を検討した。2)B細胞受容体下チロシンキナーゼであるSyk分子阻害薬を用いて、B細胞活性化、増殖、および抗体産生に対する効果を検討した。

(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)ROR γ Tトランスジェニックマウスにおいて自己反応性唾液腺炎が自然発症した。その発症機序として、M3Rに対するIL-17産生T細胞および抗M3R抗体の存在が関与しているが判明した。2)ROR γ T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、抗CII抗体価の有意な低下が示唆された。
- 2)高橋: 1)ROR γ Tトランスジェニックマウスにおいて、血清IL-17の増加、Balb/cバックグラウンドにおいて高 γ グロブリン血症、血清IL-6の上昇、多臓器に形質細胞増加の浸潤を認めた。2)DSS投与による潰瘍性大腸炎は、GATA-3トラ

ンスジェニックマウスにおいて最も重篤化し、T-bet トランスジェニックでは軽症であった。

- 3) 小安：1)CpG 刺激により IL-12、IL-6、TNF- α 産生が増加した。2)CpG 刺激 DC 移入では LPS 刺激と同等の CIA 発症が認められた。3)IL-15 ノックアウトマウス由来 DC 移入により CIA が誘導できなかった。
- 4) 松本：1)TIARP ノックアウトマウスにおいて CD11b+細胞の増加、CIA の増悪、血清 IL-6 の増加、関節内 IL-6 および TNF- α mRNA の増加が認められた。2)RA 患者血清において、抗 CCG 抗体の感度は 40.3%、特異度は 95.4%であった。
- 5) 上阪：1)新規 TREM1-L 分子を選定した。2)同分子に対するモノクローナル抗体により CIA を予防、治療することに成功した。3)抗体の関節炎抑制機序は、TREM1-TREM1-L の相互作用を競合的に阻害するだけでなく TREM1-L 産生細胞に対して細胞内シグナルへ影響を与えている結果であることも明らかにした。
- 6) 小池：1)RA 患者末梢単球において RasGRP4mRNA は高発現し RasGRP4 スプライスバリエント mRNA 発現も検出された。一方、RasGRP4 蛋白発現は低下していた。この結果から、スプライスバリエントが RasGRP4 を負に制御している可能性が示唆された。
- 7) 山村：MRI-/DBA/1 マウスにおいて CIA および抗体誘導関節炎はともに、臨床スコア、病理スコアが軽度であった。
- 8) 藤尾：1)MRL/lpr マウスに CD4+CD25-LAG3+Treg 細胞を移入した結果、自己抗体産生および腎障害が有意に改善した。2)上記細胞は *in vivo* および *in vitro* において抗 NP 抗体産生を著明に抑制した。
- 9) 石川：抗 BLC 抗体投与により BWF1 マウスの生存曲線、蛋白尿、抗体 DNA 抗体の改善、各臓器における IL-17mRNA 発現低下が認められた。
- 10) 田中：1)BCR 架橋、sCD40L、CpG-ODN による刺激によりメモリーB 細胞においてより活性化された。2)Syk 阻害薬により TLR9、TRAF6 発現、NF κ B のリン酸化が完全に抑制された。

D. E. 考察と結論

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した。本年度の研究成果では、自己免疫疾患における DC 細胞、T 細胞抗原エピートープ、TH1、TH2、TH17 細胞の関与、新規 Treg 細胞

やユニークな NKT 細胞などの調節性 T 細胞、B 細胞の関与等について明らかにする事ができ一定の研究成果が得られたと考えられる。本研究成果は、自己免疫疾患の発症機構を分子、細胞レベルで解析する基盤研究であり、次年度以降は、本研究成果に基づいた具体的な新規治療戦略の開発をめざす。

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：飯塚 麻菜¹、松尾 直美¹、坪井 洋人¹、姚 肇瑾、近藤 裕也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。本年度は、ROR γ t TG マウスを用いた研究結果から、1)ROR γ t TG において、自然発症する唾液腺炎および涙腺炎が認められた。2)局所浸潤細胞は CD4+T 細胞および B 細胞が主体であり、唾液分泌量は有意に減少していた。3)M3R 反応性 CD4+T 細胞からの IL-17 産生が増加し、抗 M3R 抗体も検出された。4)ROR γ tTG における CIA 研究では、関節炎発症頻度および関節炎スコアの有意な低下が認められた。5)CII 反応性 CD4+T 細胞において IL-17 産生細胞の増加が認められた。6)一方、血清中の総抗 CII 抗体価が低下していた。などを明らかにした。以上の研究成果から、ROR γ t の強発現により自己免疫性唾液腺炎が発症し、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) ROR γ t トランスジェニックマウス (ROR γ t TG) (B6 バック) における唾液腺炎：(1)12 週令において、唾液腺について H-E 染色で組織学的に検討し、IF 染色、フローサイトメトリーで浸潤細胞の性状について検討した。(2)脾細胞および所属リンパ球を in vitro で PMA+Ionomycin で刺激してサイトカイン産

生、Treg 細胞数を検討した。(3)脾細胞を in vitro で抗原 (M3R、CII、GPI) と共培養しサイトカイン産生を検討した。

2) ROR γ t TG (B6 バック) における CIA：(1) ROR γ tTG に CIA を誘導して関節炎スコア、関節炎発症頻度を検討した。(2)所属リンパ節 CD4+T 細胞における ROR γ t 発現をフローサイトメトリーで解析した。(3)所属リンパ節 CD3+T 細胞を in vitro で PMA+Ionomycin で刺激し IL-17 発現細胞をフローサイトメトリーで測定した。(4)CII 免疫したマウスから所属リンパ節を摘出し in vitro で CII と共培養しサイトカイン産生をフローサイトメトリーおよび ELISA で解析した。(5)CII 2 回免疫後の血清中の抗 CII 抗体を ELISA 法で測定した。

(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) ROR γ t TG における唾液腺炎：(1)著明な自然発症唾液腺炎および涙腺炎が認められた。(2)局所浸潤細胞は CD4+T 細胞および B 細胞が主体であり IgG の沈着やアポトーシスに陥った細胞も認められた。(3)唾液分泌量は有意に減少していた。(4)脾細胞の PMA/inomycin 刺激により IL-6 のみが有意に増加していた。(5)頸部リンパ節における Treg 細胞数は減少していた。(6)M3R 反応性 CD4+T 細胞から IL-17 産生が増強し、抗 M3R 抗体も検出された。
- 2) ROR γ t TG における CIA：(1)関節炎発症頻度および関節炎スコアの有意な低下が認められた。(2)T 細胞における ROR γ t 蛋白の著明な増加が認められた。(3)CD4+T 細胞において IL-17 産生細胞の増加が認められた。(4)CII 反応性 CD4+T 細胞において IL-17 産生細胞が増加し、IL-17 産生の増強がみられた。(5)血清中の総抗 CII 抗体価が低下していた。

D. E. 考察と結論

ROR γ t 分子の T 細胞での強発現により、唾液腺炎および涙腺炎が発症した。その発症機序に、脾細胞における M3R に対する Th17 細胞の増加、IL-6 産生亢進、Treg 細胞の減少などの関与が推測された。一方、CII 反応性 T 細胞からの IL-17 産生は増加していたが、抗 CII 抗体価の低下などにより CIA は有意に抑制された。さらなる発症の分子機構の解析が待たれる。

F. 研究発表

論文発表

1. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Horikoshi, M., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. NK1.1+ gdT cells attenuates IL-18 plus IL-2-induced murine interstitial lung disease. *Am. J. Res. Cell. Mol. Biol. (in press)*
2. Hikami, K., Kawasaki, A., Koga, M., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Arinami, T., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum. (in press)*
3. Kawasaki, A., Ito, S., Furukawa, H., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Ohashi, J., Graham, R.R., Matsuta, K., Behrens, T.W., Tohma, S., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of TNFAIP3 interacting protein 1, TNIP1 with systemic lupus erythematosus in a Japanese population: a case-control association study. *Arthritis Reas. Ther. 2010 Sep 17;12(5):R174. [Epub ahead of print]*
4. Iizuka, M., Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Tsuboi, H., Nakamura, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive immune response induces Sjogren's syndrome-like sialoadenitis. *J. Autoimmunity 35:*

383-389, 2010.

5. Shen, N., Fu, Q., Deng, Y., Qian, X., Zhao, J., Kaufman, K.M., Tang, Y., Chen, J-Y, Yang, W., Wong, M., Kawasaki, A., Tsuchiya, N., Sumida, T., Kawaguchi, Y., Yum C-Y, Takasaki, Y., Hashimoto, H., Harley, J.B., Guthridge, J.M., Grossman, J.M., Cantor, R.M., Song, Y.W., Bae, S, Cehn, S, Hahn, B.H., Lau, Y.L., and Tsao, B.P. Gender specific association of X-linked TLR7 with male systemic lypus erythematosus. *Proc. Natl. Acad. Sci. 107:15838-43, 2010.*

6. Tsuboi, H., Matsumoto, I., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. The new epitopes of anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Clin. Exp. Immunol. 162:53-61, 2010.*

7. Sumida, T., Tsuboi, H., Iizuka, M., Nakamura, Y., and Matsumoto, I. Functionla role of M3 muscarinic acetylcholine receptor (m3R) reactive T cells and anti-M3R autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Autoimmunity Reviews 9:615-617, 2010.*

8. Tashiro, T., Nakagawa, R., Inoue, S., Omori-Miyake, M., Chiba, T., FUjii, S-I, Shimizu, K., Mori, K., Yoshiga, Y., Sumida, T., Watarai, H., and Taniguchi, M. Induction of Th1-biased cytokine production by a-carba-GalCer, a neoglycolipid ligand for natural killer T cells. *Int. Immunol. 22:319-28. Epub 2010 Feb 24.*

9. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., Ito, S., and Sumida, T. Inhibition of TGF-b signaling attenuates IL-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease. *Clin. Exp. Immunol. 160: 394-402. Epub 2010 Jan 19.*

10. Chen, Q., Lamphier, M., Muramoto, K., Ding, Y., Ynag, H., Mackey, M., Li, W., Liu, D., Inoue, Y., Massaki, N., Patel, T., Groom, A., Reynolds, D., Perron, S., Shirota, H., Matsumoto, I., Sumida, T., Spyvee, M., Schiller, S., ZGusovsky, F., and Marc, K. Preostaglandin E2 stimulation of EP4 promotes Th1 differentiation and Th17 expansion and is critical for autoimmune disease. *Br. J. Pharmacol. 160: 292-310, 2010.*

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

図1 ROR γ t TG マウスにおける病理組織像

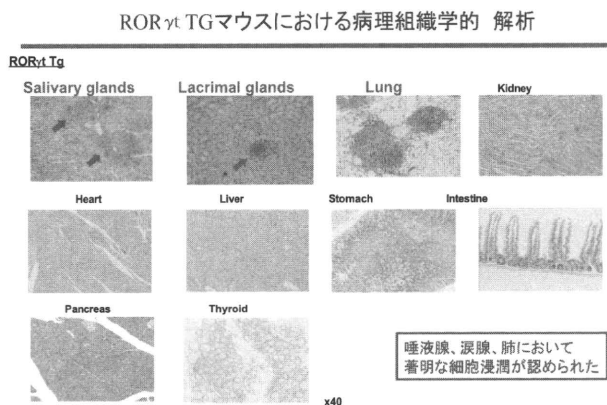


図2 ROR γ t TG マウスにおける唾液腺の免疫組織化学的解析

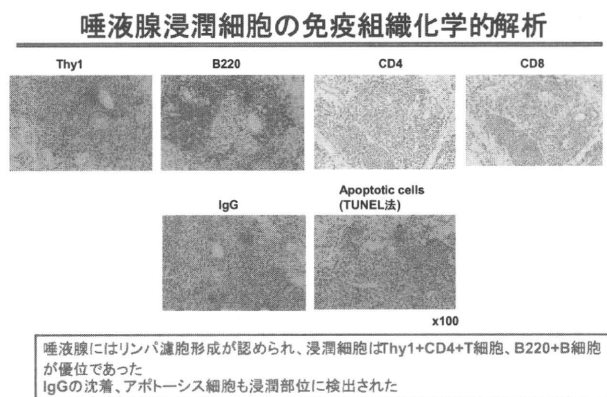


図3 ROR γ t TG マウスにおけるM3R反応性CD4+ T細胞によるサイトカイン産生および抗M3R抗体

ROR γ tTGにおいてM3R反応性T細胞および抗M3R抗体が検出

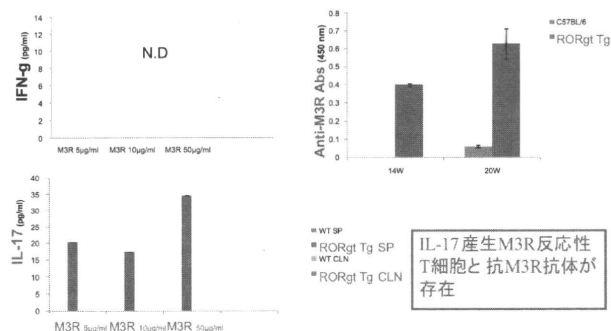


図4 ROR γ t TG マウスにおけるCIA および関節病理組織像

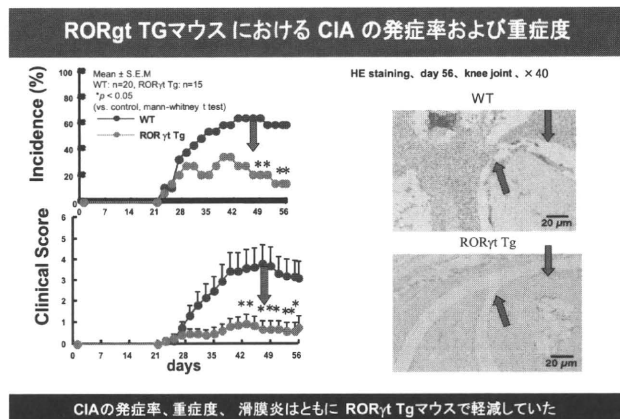


図5 ROR γ t TG マウスにおけるCII反応性CD4+ T細胞からのサイトカイン産生

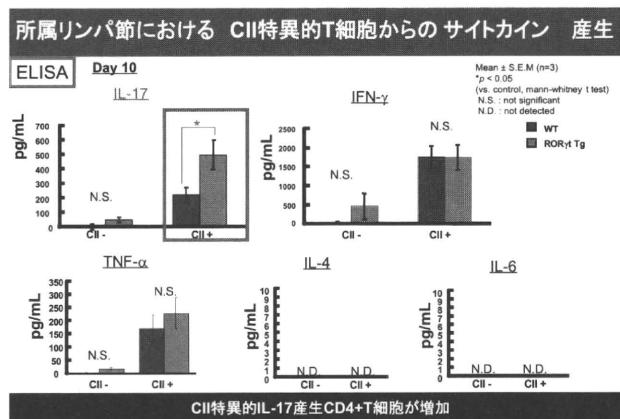
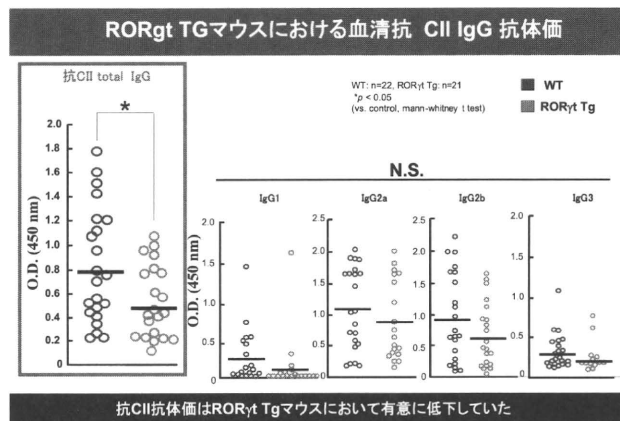


図6 ROR γ t TG マウスにおける抗CII抗体産生



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 高橋 智 筑波大学 大学院人間総合科学研究科（教授）

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、および ROR γ t を過剰発現したマウスに免疫疾患を誘導し、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なった。

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議論されている。免疫疾患における TH1/TH2 および TH17 細胞の機能を解析し、その役割と制御を明らかにすることを本研究の目的とした。

B. 研究方法

T 細胞系に発現する CD2 プロモータを有する VA vector に、TH1 誘導転写因子 T-bet、TH2 誘導転写因子 GATA-3、TH17 誘導転写因子 ROR γ t を挿入し、それらを用いて遺伝子改変マウスを作製した。その結果、T 細胞系に T-bet、GATA-3、ROR γ t を過剰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。それらのマウスについて以下の解析を行った。

- 1) ROR γ t Tg の表現型の解析を行い、ROR γ t の過剰発現により免疫システムにどのような変化が現れるかを解析した。
- 2) T-bet、GATA-3、ROR γ t Tg マウスを用いて、潰瘍性大腸炎モデル (Dextran Sulfate Sodium(DSS)投与実験) の検討を行った。DSS は 2.5% で経口投与し、7 日後に腸炎評価を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究では遺伝子改変マウスを用いており、遺伝子組換え実験および動物実験に該当する。それぞれの実験計画書を遺伝子組換え実験安全委員、動物実験委員会に提出し、承認を得た。ヒト由来のサンプルは使用しなかった。

C. 研究結果

- 1) C57BL/6J (B6) の遺伝的背景を有する 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。ROR γ t Tg マウスでは、血清 IL-17 の上昇を認めた他、肺を含む多臓器に形質細胞の浸潤が確認された。また血清 IgG、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3 が上昇し、高ガンマグロブリン血症を呈していた。そのほか、血清 IL-6 の上昇が認められ、脾臓においては CD11b 陽性 IL-6 陽性細胞の増加が確認された (投稿準備中)。

- 2) 潰瘍性大腸炎モデルである Dextran Sulfate Sodium (DSS) 投与実験を T-bet Tg、GATA-3 Tg、ROR γ t Tg および野生型の 4 群のマウスに行った。実験終了時の平均体重減少率および腸管長は、それぞれ T-bet Tg が -3.5% 6.87cm、GATA-3 Tg が -13.3% 6.13cm、ROR γ t Tg が -8.2% 6.67cm、野生型が -8.3% 6.63cm であった。4 群間では、T-bet Tg マウスで DSS 腸炎が最も軽く、ROR γ t Tg は野生型とほぼ同等で、GATA-3 Tg マウスが最も重篤であった。

D. 考察

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。ROR γ t Tg マウスでは、TH17 細胞分化誘導に伴う IL-17 の産生増加が認められた。その後、Balb/c の遺伝的背景に移行することにより、全身の形質細胞の増殖が認められた。IL-17 はマクロファージからの IL-6 産生を誘導することが知られており、IL-17 上昇に伴う IL-6 の上昇が形質細胞の増殖に関与したと考えられる。DSS 投与実験では、T-bet Tg マウスでは比較的軽症で、ROR γ t Tg は野生型とほぼ同等、GATA-3 Tg マウスでは病態が最も重篤化していた。炎症性腸疾患では Th17 の役割が注目されているが、DSS 投与による本研究では、TH2 が TH17 より病態の増悪に関与し、また TH1 では病態を抑制する結果であった。

E. 結論

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

とにより、表現型の増強を確認した。ROR γ t Tg マウスの表現型解析から、IL-17 → IL-6 の関与が推測された。また DSS 投与実験では、TH2 が TH17 より病態の重篤化に關与する結果が得られた。これらの研究により、我々の作製したマウスモデルが疾患の病態評価の有効な評価系となることが明らかとなった。

F. 健康危険情報

特記無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kiwamoto T, Ishii Y, Morishima Y, Yoh K, Kikuchi N, Haraguchi N, Masuko H, Kawaguchi M, Nomura A, Sakamoto T, Takahashi S, Hizawa N. Blockade of cysteinyl leukotriene-1 receptors efficaciously suppresses airway remodeling in Th2-biased mice. *Clin. Exp. Allergy*, **41**; 116-128, 2011.
2. Haraguchi N, Ishii Y, Morishima Y, Yoh K, Matsuno Y, Kikuchi N, Sakamoto T, Takahashi S, Hizawa N. Impairment of host defense against disseminated candidiasis in mice overexpressing GATA-3. *Infect. Immun.*, **78**; 2302-2311, 2010.
3. Togayachi A, Kozono Y, Ikehara Y, Ito H, Suzuki N, Tsunoda Y, Abe S, Sato T, Nakamura K, Suzuki M, Goda HM, Ito M, Kudo T, Takahashi S, Narimatsu H. Lack of lacto/neolacto-glycolipids enhances the formation of glycolipid-enriched microdomains, resulting in hyperactivation of B cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **107**; 11900-11905, 2010.
4. Mizuki S, Oishi H, Zhang MC, Kamogawa J, Miyazaki T, Ono M, Takahashi S, Yamamoto H, Nose M. Genetic heterogeneity in rheumatoid arthritis mouse models induced by extrinsic and intrinsic factors. *Pathol. Int.*, **60**; 430-437, 2010.
5. Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Takahashi S, Yamamoto M, Kawada T, Kudoh S, Sugawara I. Nrf2 is closely related to allergic airway inflammatory responses induced by low-dose diesel exhaust particles in mice. *Clin. Immunol.*, **137**; 234-241, 2010.

2. 学会発表

1. 近藤裕也、松本 功、姚 肇瑾、坪井洋人、杉原誠人、林 太智、後藤大輔、松本 功、伊藤 聡、堤明人、高橋 智、住田孝之. Tristetraprolin によるコラーゲン誘導関節炎 (CIA) の制御. 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2010. 4.22~25. 神戸
2. 神宮 崇、鈴木 豪、杉原誠人、鈴木 英二、近藤裕也、林 太智、後藤大輔、伊藤 聡、高橋 智、住田孝之. T-bet トランスジェニックマウスによる関節炎制御機構の解析. 第 54 回日本リウマチ学会総

会・学術集会 2010. 4.22~25. 神戸

3. 松永江美、楊 景堯、高橋 智. Th1/Th17 細胞優位発現マウスにおける EAE 解析. 日本分子生物学会 / 生化学会総会 2010. 12.7~10. 神戸

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

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。樹状細胞由来のサイトカイン産生に対する種々の TLR リガンドの影響を検討したところ、樹状細胞由来の IL-15 が重要であることが明らかになり、また TLR リガンドとしては CpG は様々なサイトカイン産生を誘導できるが、IL-15 に関しては誘導能が低く、LPS が最も効率が良いことが明らかになった。

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) TLR 刺激により樹状細胞からのサイトカイン産生と CIA 発症との相関

前年度の結果から、CpG-DNA 500 nM および zymosan 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 刺激により炎症性サイトカイン産生が高かったため、この 2 種類の TLR リガンドで DC を処理した場合の CIA について、同様に発症率、重症度および抗コラーゲン抗体について、LPS 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 処理の場合と比較検討した。

2) IL-15 産生と CIA 発症との相関

申請者らは、IL-15 が樹状細胞の関わる炎症反応の惹起に重要であることを報告している (*J Exp Med* 203 p2329 (2006))。そこで CIA の惹起にも樹状細胞から産生される IL-15 が重要であるかを調べるため、IL-15 欠損(IL-15 KO)マウスの脾臓から DC を単離し、これを LPS で刺激して野生型(WT)マウスに投与し CIA を誘導し、発症率、重症度および抗コラーゲン抗体価について検討した。また DC からの IL-15 産生が減少している、サイトカイン共通ガンマ鎖遺伝子および rag2 遺伝子を欠損する二重欠損(γ_c -rag2 DKO)マウス由来 DC についても、併せて検討を加えた。

3) TLR リガンドの違いによる DC における IL-15 遺伝子発現の検討

2)に関連して、もし IL-15 が CIA 発症に関わるサイトカインである場合に、DC に発現する IL-15 がどの TLR リガンドによって調節されるかを知ることは重要である。そこで脾臓 DC に様々な TLR リガンドを作用させ、刺激 24 時間後に発現する IL-15 遺伝子の量を定量 RT-PCR にて解析した。

4) TLR リガンド刺激 DC が産生する IL-15 による CD4⁺ T 細胞応答の解析

CD6)に付随して、DCから抗原提示を受けるCD4⁺T細胞の増殖が、DCから産生されるIL-15によって変わるかどうかについて、WTマウスあるいはIL-15 KOマウス由来DCを、それぞれのTLRリガンドで刺激したDCに卵白アルブミン(OVA)を取り込ませ、OVA特異的CD4⁺T細胞を持つTCRトランスジェニックマウスであるOT-IIマウス由来のCD4⁺T細胞(CFSEでラベル)に提示させ、増殖に変化があるかを検討した。

(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) TLR刺激により樹状細胞からのサイトカイン産生とCIA発症との相関

CpG-DNA処理DCを投与した場合の発症率は約4割であり、また、重症度および抗コラーゲン抗体価もLPS処理群と同程度であり、より重症化する傾向は見られなかった。また、zymosan処理群では全くCIAを発症せず、抗体価もLPS処理群と比較して低かった。

2) IL-15産生とCIA発症との相関

DCからのIL-15遺伝子発現の低い γ_c -rag2 DKOマウス、あるいはIL-15 KOマウス由来のDCでは、CIA発症が遅れる上に抗コラーゲン抗体価も低く、発症率および重症度が低下していた。

3) TLRリガンドの違いによるDCにおけるIL-15遺伝子発現の検討

樹状細胞におけるIL-15遺伝子の発現は、CpG-DNAやLPSに比べてpoly I:C刺激で高く、zymosan刺激では低かった。

4) TLRリガンド刺激DCが産生するIL-15によるCD4⁺T細胞応答の解析

どのTLRリガンドを用いた場合でもCD4⁺T細胞は増殖し、WTマウスあるいはIL-15 KOマウス由来DCの間でCD4⁺T細胞の増殖に差は見られなかった。

D. 考察

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と考えられてい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。しかし、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も発症率や重症度が上昇することはなかった。一方で、LPSによって樹状細胞からIL-15が効率よく誘導され、IL-15欠損樹状細胞では発症率が低下したことから、発症には樹状細胞由来のIL-15が重要な役割を果たすと考えられる。

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、発症には樹状細胞由来のIL-15が重要な役割を果たすことが明らかになった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Koyasu, S. and Moro, K. Th2-type innate immune responses and the natural helper cell. *Immunology in press.*
2. Koyasu, S. and Moro, K. Innate Th2-type immune responses and the Natural Helper Cell, a newly identified lymphocyte population. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol. in press.*
3. Chiba, S., Nagai, T., Hayashi, T., Baba, Y., Nagai, S. and Koyasu, S. Listerial invasion protein internalin B promotes the entry into ileal Peyer's patches *in vivo*. *Microbiol. Immunol. 55:123-129, 2011.*
4. Koyasu, S., Moro, K., Tanabe, M. and Takeuchi, T. Natural Helper Cells: a new player in the innate immune response against helminth infection. *Adv. Immunol. 108:21-44, 2010*

2. 学会発表

1. Nagai S, Katori R, Oyama M, Koyasu S.: Establishment of a novel collagen-induced arthritis model by manipulating dendritic cells. The 11th International Symposium on Dendritic Cells (September 26-30) (Lugano, Switzerland) Sep. 29, 2010 発表(口頭)
2. Katori R, Oyama M, Nagai S, Koyasu S.: Establishment of a novel collagen-induced arthritis model by manipulating dendritic cells. 14th International Congress of Immunology (August 22-27, 2010)(Kobe, Japan) 2010年8月24日発表(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

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

分担研究者 松本 功（筑波大学人間総合科学研究科臨床免疫 准教授）

研究要旨

関節リウマチの病因については未だ不明な点が多いが、解糖系酵素 GPI に対する抗体が単独で関節炎を誘導できることがマウスで明らかになっている。また、この自己抗原 GPI を免疫して発症する関節炎モデルではわずか1週間で発症する。我々は RA 患者において抗 GPI 抗体を保持する患者が多いことも明らかにしてきたが、これら2つの GPI 関連関節炎モデル、それらを改変したモデル、および RA での抗 GPI 抗体陽性者の共通点を見出すことにより、関節炎を修飾する分子の同定、およびそれらをターゲットにした関節炎制御療法を模索し、新規治療法の開発をめざす。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)治療において TNF α をターゲットとした治療が劇的な効果をもたらしているが、その作用メカニズムに関しての詳細は未だ不明である。Glucose-6-phosphate isomerase (GPI)誘導関節炎では発症後でも抗 TNF α 抗体を投与することにより関節炎が治癒するが、我々はこのモデルマウスを用い関節炎初期に CD11b+細胞に過剰発現している Tumor necrosis factor α -induced adipose-related protein (TIARP)分子を見出した。昨年の本会でヒトでの TIARP counterpart の存在や病態意義について研究成果を発表したが、本年は独自に TIARP 欠損マウスを作成し、関節炎発症における役割を更に検討した。

また RA の診断において抗シトルリン化蛋白抗体の診断的意義は明確であるが、その病態機序に関しては明らかでない。昨今、シトルリン化した解糖系酵素 α エノラーゼに対する自己抗体が注目されている。モデルマウスにおいて関節炎原生を持つ抗 GPI (glucose-6-phosphate isomerase) 抗体は、ヒト RA でも活動性が高く関節外症状の強い患者に多く認められることが判明しているが、我々はシトルリン化 GPI に着目し、RA 患者での抗シトルリン化 GPI 抗体についても検討した。

B. 研究方法

- 1) C57BL/6 系統の TIARP 欠損マウスを作製し、phenotype 解析を行った。
- 2) コラーゲン誘導関節炎(CIA)を誘導し発症率、重症度を検討した。
- 3) 関節炎マウスにおける C II 特異的抗体産生および T 細胞応答を検討し、免疫 60 日後の血清中および関節局所での IL-6、TNF α 発現解析を行った。
- 4) RA(211 名)と HC(174 名)を対象として、3 種類の環状

化シトルリン化 GPI(CCG-1,CCG-2,CCG-3)に対する抗体を ELISA で測定し、環状化シトルリン化 α エノラーゼペプチド(CEP-1)に対する抗体、抗 CCP 抗体も測定し比較検討した。

(倫理面への配慮)

筑波大学の医の倫理特別委員会はすでに承認済みである。

C. 研究結果

- 1) TIARP 欠損マウスでは脾臓にて CD11b+細胞が著明に増加していた。
- 2) CIA 誘導により発症率、臨床スコアは野生型に比し著明に悪化していた。
- 3) C II 特異的抗体価および in vitro での C II 再刺激による CD4+T 細胞の IFN γ 、IL-17 産生は野生型と TIARP 欠損マウス間で有意な差は認められなかった。一方、血清中 IL-6 濃度および関節局所の IL-6、TNF α mRNA 発現は野生型と比較して TIARP 欠損マウスで有意に高値を示した。
- 4) RA で抗 CCG 抗体陽性率は 40.3%、特異度は 95.4% であった。一方、抗 CEP-1 抗体陽性率は 46.9%、抗 CCP 抗体陽性率は 86.2%であり、抗 CCG 抗体は抗 CEP-1 および抗 CCP 抗体と有意に相関した。

D. 考察 E. 結論

TIARP は炎症生サイトカイン産生調節を介し関節炎を抑制する分子であると考えられた。また、RA においてシトルリン化 GPI に対する自己抗体の存在を初めて検出し、今後 RA 病態との関連を考察していく。

G. 研究発表

論文発表

1. Yoshiga Y, Goto D, Segawa S, Horikoshi M, Hayashi T, Matsumoto J, Ito S, Taniguchi S,

- Sumida T. Activation of natural killer T cells by α -carba-GalCer (RCAI-56), a novel synthetic glycolipid ligand, suppresses murine collagen-induced arthritis. *Clin. Exp. Immunol. (in press)*
2. Akashi N, Matsumoto I, Tanaka Y, Inoue A, Yamamoto K, Tanaka Y, Umeda N, Hayashi T, Goto D, Ito S, Sekiguchi K, Sumida T. Comparative suppressive effect in models of autoimmune arthritis by tyrosine kinase inhibitors imatinib and nilotinib. *Mod. Rheumatol. (in press)*
 3. Hikami K, Kawasaki A, Ito I, Koga M, Ito S, Hayashi T, Matsumoto I, Tsutsumi A, Kusaoi M, Takasaki Y, Hashimoto H, Arinami T, Sumida T, Tsuchiya N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum. (in press)*
 4. Tsuboi H, Wakamatsu E, Iizuka M, Nakamura Y, Sugihara M, Suzuki T, Ogishima H, Hayashi T, Goto D, Ito S, Matsumoto I, Sumida T.: Importance of serine727 phosphorylated STAT1 in IFN γ -induced signaling and apoptosis of human salivary gland cells. *International Journal of Rheumatic Diseases (in press)*
 5. Kawasaki A, Ito S, Furukawa H, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Kusaoi M, Ohashi J, Graham R R, Matsuta K, Behrens T W, Tohma S, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N.: Association of TNIP1 with systemic lupus erythematosus in a Japanese population : a case-control association study. *Arthritis Res. Ther. 12:R174, 2010*
 6. Iizuka M, Wakamatsu E, Tsuboi H, Nakamura Y, Hayashi T, Matsui M, Goto D, Ito S, Matsumoto I, Sumida T. M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive immune response induces Sjogren's syndrome-like sialoadenitis. *J. Autoimmunity 35:383-389, 2010*
 7. Horikoshi M, Suzuki T, Sugihara M, Kondo Y, Tsuboi H, Uehara T, Hama M, Takase K, Ohno S, Ishigatsubo Y, Yoshida Y, Sagawa A, Ikeda K, Ota T, Matsumoto I, Ito S, Sumida T. Comparison of low-field dedicated extremity magnetic resonance imaging with articular ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol. 20:556-560, 2010*
 8. Hayashi T, Ito S, Goto D, Matsumoto I, Sumida T. Elevated level of serum cystatin-C concentration is a useful predictor for myelosuppression induced by methotrexate for treatment of rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol. 20:548-55, 2010*
 9. Tsuboi H, Matsumoto I, Wakamatsu E, Nakamura Y, Iizuka M, Hayashi T, Goto D, Ito S, Sumida T. New epitopes and function of anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Clin. Exp. Immunol. 162:53-61, 2010*
 10. Ogishima H, Ito S, Tsutsumi A, Sugihara M, Goto D, Matsumoto I, Obata-Yasuoka M, Hamada H, Yoshikawa H, Takahashi H, Murashima A, Sumida T. High dose unfractionated heparin therapy in a pregnant patient with antiphospholipid syndrome: a case report *International Journal of Rheumatic Diseases 13:e32-35, 2010*
 11. Kawasaki A, Ito I, Ito S, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N. Association of TNFAIP3 polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2010:207578, 2010*
 12. Sumida T, Tsuboi H, Iizuka M, Nakamura Y, Matsumoto I. Functional role of M3 muscarinic acetylcholine receptor (M3R) reactive T cells and anti-M3R autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Autoimmunity Reviews 9:615-617, 2010*
 13. Suzuki T, Ito S, Handa S, Kose K, Okamoto Y, Minami M, Sugihara M, Horikoshi M, Tsuboi H, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Sumida T. New low-field extremity MRI, compactTscan: comparison with whole body 1.5 tesla conventional MRI. *Mod. Rheumatol. 20:331-336, 2010*
 14. Segawa S, Goto D, Yoshiga Y, Sugihara M, Hayashi T, Chino Y, Matsumoto I, Ito S, Sumida T. Inhibition of transforming growth factor- β signaling attenuates IL-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease in mice. *Clin. Exp. Immunol. 160: 394-402, 2010*
 15. Ito I, Kawasaki A, Ito S, Kondo Y, Sugihara M, Horikoshi M, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Tsutsumi A, Takasaki Y, Hashimoto H, Matsuta K, Sumida T, Tsuchiya N. Replication of association between *FAM167A(C8orf13)-BLK* region and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis. 69:936-7, 2010*
 16. Chen Q, Muramoto K, Masaaki N, Ding Y, Yang H, Mackey M, Li W, Inoue Y, Ackermann K, Shirota H, Matsumoto I, Spyvee M, Schiller S, Sumida T, Gusovsky F, Lamphier M. A novel antagonist of the prostaglandin E(2) EP(4) receptor inhibits Th1 differentiation and Th17 expansion and is orally active in arthritis models. *Br J Pharmacol.*