

230(9): 737-745, 2009.

17. 平形道人: 代表的な自己免疫疾患/多発性筋炎・皮膚筋炎. Cefiro 「特集自己免疫疾患」10 号秋:25-32, 2009.

18. 平形道人: 処方計画法「多発性筋炎・皮膚筋炎」総合臨床(増刊), 57:1299-1304, 2008.

19. 平形道人: 膠原病における自己抗体. 臨床検査 52(5):504-510, 2008.

2. 学会発表

1. Hirakata M, Takada T, Kaneko Y, Kuwana M. Clinical features are governed by immunogenetic background in Japanese patients with anti-aminoacyl tRNA synthetase autoantibodies. 72nd Annual Meeting of American College of Rheumatology, 2008 Oct, San Francisco.

2. Sato S, Hoshino K, Satoh T, Suwa A, Hirakata M, Inada S, Kuwana M. MDA5 (Melanoma-Differentiation-Associated Gene 5) as an autoantigen recognized by anti-CADM-140 antibody in patients with clinically amyopathic dermatomyositis. 72nd Annual Meeting of American College of Rheumatology, 2008 Oct, San Francisco.

3. Hirakata M, Takada T, Suwa A, Hardin JA: Development of the novel assay system detecting anti-SRP autoantibodies: The clinical, histopathological and immunogenetic features in Japanese patients. 73rd Annual Meeting of American College of Rheumatology, 2009 Oct, Philadelphia.

4. 平形道人, 諏訪昭, 高田哲也, 香月有美子, 金子祐子, 佐藤慎二, 桑名正隆: 抗 KS(asparaginyl tRNA 合成酵素:AsnRS)抗体の臨床・免疫遺伝学的特徴に関する研究. 第 52 回 日本リウマチ学会総会, 2008 年 4 月, 札幌.

5. 平形道人, 諏訪昭, 高田哲也, 井上有美子, 金子祐子, 桑名正隆: 抗アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS)抗体陽性例における臨床像と免疫遺伝学的背景との関連に関する研究. 第 53 回 日本リウマチ学会総会, 2009 年 4 月, 東京.

6. 平形道人, 高田哲也, 金子祐子, 竹内 勤: 新たな抗 SRP 抗体測定法の開発とその臨床的有用性に関する研究. 第 53 回 日本リウマチ学会総会, 2010 年 4 月, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)

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

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

研究分担者 高田 和生 東京医科歯科大学医歯学融合教育支援センター 特任准教授

研究要旨 多発性筋炎・皮膚筋炎には間質性肺炎が高頻度に合併するが、唯一適応承認を持つ糖質コルチコイドの有効性は極めて低い一方、初期治療開始後早期よりの免疫抑制薬併用が生命予後を改善しうることが示唆されている。本疾患罹患部肺胞・間質に浸潤しており、病態への関与が示唆されているTリンパ球に対する特異的免疫抑制薬であるタクロリムスの本疾患における有効性を示唆する報告が蓄積されつつあり、新規治療薬候補として期待されている。不採算性などのため製薬会社主導開発の可能性はなく、従って我々は研究者主導にてタクロリムスの有用性を検討している。本研究班に属する分担研究者所属医療機関を中心とした全11施設の協力のもと効能追加申請のためのデータ取得を目的としたGCP準拠の多施設共同第II/III相臨床試験を継続した。本試験は多発性筋炎・皮膚筋炎合併間質性肺炎の初発または安定化後の再発のために治療を必要とする症例を対象とし、生存率を主要評価項目としたタクロリムスおよび糖質コルチコイド併用の単群によるオープンラベル臨床試験（パートA）、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歴史的比較対照群（パートB）、そしてパートAとの比較可能性が担保できる範囲でのパートB選択除外基準緩和により拡大される歴史的比較対照群（パートB'）のデータ抽出を行い、パートAとBおよびAとB' データを比較解析し、タクロリムスの本疾患における治療的位置づけを検討するとういものである。2007年7月の被験者登録開始後計26例が登録され、2009年12月末日に症例登録を打ち切った。除外基準抵触の1例を除く25例に治験薬が投与され（皮膚筋炎13例、clinically-amyopathic dermatomyositis（CADM）5例、多発性筋炎7例）、2011年1月最終被験者最終観察終了した。25例のうち、女性19例（76%）、年齢55.4±2.4歳（平均±標準誤差）、治療開始前KL-6 1134.7±178IU/mL（同）、%VC 69.8±3.3（同）であった。平均評価項目達成例数は、主要評価項目（死亡）については3例到達（皮膚筋炎1例（6週）、CADM2例（21週および46週）、副次的評価項目の増悪については現時点で5例到達（皮膚筋炎3例（3日、4週、36週）、CADM1例（16週）、多発性筋炎1例（52週））が判明している。また重篤な有害事象は16件であり、うち4件が感染症であった。一方パートBおよびB'症例数は少数にとどまり、パートAとのデータ比較解析は技術的調整をもってしても極めて難しいと判断される。そしてその原因は、初期治療として糖質コルチコイド単独投与が行われる症例が極めて少ない医療環境が形成されてしまっているからであると考察され、効能追加申請資料作成には更なる考察を要する。予後不良で現在限られたエビデンスのもと免疫抑制薬が適切な用法用量設定も行われていないまま適応外使用されている本疾患において、注目されている新規治療法候補の有用性の、取得しうる最善のデータをもつての検討を引き続き行う。

A. 研究目的

多発性筋炎・皮膚筋炎には間質性肺炎が高頻度に合併するが、唯一適応承認を持つ糖質コルチコイドの有効性は極めて低く、短期死亡率が極めて高く予後不良である。一方、糖質コルチコイドによる初期治療開始後早期に免疫抑制薬を併用した場合には短期死亡率が改善されることが示唆されており、臨床の現場ではシクロスポリンやシクロホスファミドなどの免疫抑制薬が、限られたエビデンスに基づき

適切な用法用量設定もされないまま適応外で糖質コルチコイド開始時より併用されているのが現状である。本疾患の病態には、肺胞・間質に多数浸潤している活性化Tリンパ球の強い関与が示唆されており、Tリンパ球特異的免疫抑制薬であるタクロリムスの本疾患における有効性を示唆する報告が蓄積されてきており、新規治療薬候補として期待されている。しかし不採算性などのため製薬会社主導開発の可能性はなく、従って我々は多発性筋炎・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効性及び安全性を検討することを目的とし、研究者主導でその開発を進めた。

B. 研究方法

日本医師会治験促進センター（治験推進研究事業採択課題）のサポートを受けながら本研究班に属する分担研究者所属医療機関を中心とした全11施設の協力のもと効能追加申請のためのデータ取得を目的としたGCP準拠の多施設共同第II/III相臨床試験を既に2007年7月より症例登録開始にて施行しており、それを継続した。

（治験の概要）

多発性筋炎・皮膚筋炎合併間質性肺炎の初発または安定化後の再発のために治療を必要とする症例を対象とし、生存率を主要評価項目としたタクロリムス（基準開始用量として0.075mg/kg/日分2、血中濃度5~10ng/mLの範囲で投与量調節可）および糖質コルチコイド（プレドニゾロン1mg/kg/日で開始後漸減）併用の単群によるオープンラベル臨床試験（目標解析対象例20例、評価観察期間52週）（パートA）に加え、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（パートB）、そしてパートAとの比較可能性が担保できる範囲でのパートB選択除外基準緩和により拡大されるHistorical control群（パートB'）のデータ抽出を行い、パートAとBおよびAとB'データを比較解析し、タクロリムスの本疾患における治療的位置づけを検討する。

また、全国の医療機関／診療科に対してアンケートを行い、2008年4月以降アンケート記入時点までの期間に経験された本疾患症例で、パートB症例選定における疾患活動性基準を満たした症例の初期治療法についての情報を求めた。

（倫理面への配慮）

「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令」（平成20年度厚生労働省令第24号、平成20年2月29日公布、「改正GCP省令」）に準拠し、治験に参加することによって生じる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治験計画において配慮し、また被験者には倫理審査委員会の承認を得た同意文書及びその他の説明文書を使用して十分説明した後、自由

意志による試験参加の同意を本人から文書で得ることとした。

C. 研究結果

2007年7月より被験者登録を開始し、合計26例登録され、2009年12月末日に症例登録を打ち切った。除外基準抵触の1例を除く25例に治験薬が投与され（皮膚筋炎13例、clinically-amyopathic dermatomyositis（CADM）5例、多発性筋炎7例）、2011年1月最終被験者最終観察終了した。25例のうち、女性19例（76%）、年齢55.4±2.4歳（平均±標準誤差）、治療開始前KL-61134.7±178IU/mL（同）、%VC69.8±3.3（同）であった。平均評価項目達成例数は、主要評価項目（死亡）については3例到達（皮膚筋炎1例（6週）、CADM2例（21週および46週）、副次的評価項目の増悪については現時点で5例到達（皮膚筋炎3例（3日、4週、36週）、CADM1例（16週）、多発性筋炎1例（52週））が判明している。また重篤な有害事象は16件であり、うち4件が感染症であった。

（パートBおよびB'）

パートAとの比較においてはIndication biasが存在するためPropensity scoreを用いたマッチングを行うべく計画しており、その観点からHistorical control群症例数はパートA群の2倍以上が適切と考えられているが、治験実施計画書で規定される適格性を満足する症例は最終的に5例にとどまり、またパートB'は11例であった。そのため、パートAとの比較解析は、Indication biasの影響を縮小するためのMatching手法などを用いた技術的調整をもってしても不可能であると考察された。

（筋炎合併活動性間質性肺炎に対する初期治療に関するアンケート調査）

全国の医療機関／診療科に対してアンケートを行い、2008年4月以降アンケート記入時点までの期間に経験された本疾患症例で、本臨床試験パートB症例選定における疾患活動性基準を満たした症例の初期治療法についての情報を求めた。回答が得られた444例のうち、糖質コルチコイド単独投与が行われたのは160例（36.0%）にすぎず、一方272例（61.3%）では糖質コルチコイドに加え免疫抑制薬が治療開始時から併用されていた。

D. 考察

パート A 症例集積は症例登録期間を 12 カ月延長したが目標が達成された。選択除外基準や様々なバイアスの存在により単純な比較はできないが、パート A データは、文献上参考にできうる糖質コルチコイド単独治療データと比較して、生存率でみた有効性においては、少なくとも劣らない。一方パート B および B' 症例数は少数にとどまり、パート A とのデータ比較解析は技術的調整をもってしても極めて難しいと判断される。そしてその原因は、アンケート結果にもみられるように、免疫抑制薬の適応外使用による糖質コルチコイドとの併用療法が既に一般化しており、初期治療として糖質コルチコイド単独投与が行われる症例が極めて少ない医療環境が形成されてしまっているからであると考察する。

E. 結論

多発性筋炎・皮膚筋炎合併間質性肺炎におけるタクロリムスの有用性の評価を行うべく GCP 準拠の多施設共同試験を医師主導で実施した。一定の症例選定基準を満たす本疾患症例において一定の用法用量基準にもとづくタクロリムスおよび糖質コルチコイドの併用治療を行った場合に期待される臨床反応および安全性に関する客観的データを提供するものであり、免疫抑制薬が適切な用法用量設定もされないまま適応外で使用されている臨床の現場に対して大きな意義を持ち、医師および患者に対して有用な情報を提供したと考える。一方、糖質コルチコイド単独治療による対照群データ収集には限界があり、効能追加申請資料作成には更なる考察を要する。希少疾患における医師主導臨床研究であるが、研究班を中心とした協力により前向き試験は症例集積目標が達成され、このような領域・分野の臨床研究における研究班体制の必要性と有用性が示された。

F. 健康危機情報

治験中の重篤な有害事象に関しては関連法規に基づき厚生労働大臣に報告されている。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
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
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

SLE モデルマウスにおける辺縁帯 B 細胞に関する研究

研究分担者 天野 浩文 順天堂大学医学部膠原病内科 准教授

研究協力者 高崎 芳成 順天堂大学医学部膠原病内科 教授

研究要旨 全身性エリテマトーデス (SLE) モデルである、BXS^Bマウスは、*Yaa*遺伝子とその発症に重要である。*Yaa*遺伝子を導入したC57BL/6 (B6). *Yaa*マウスにおいて認める、脾臓の辺縁帯 (MZ) B細胞の減少に補体とB細胞抗原受容体 (BCR) がどの様に関与しているかを調べる目的でC3ノックアウトマウス (C3^{-/-})に*Yaa*遺伝子を導入したマウス、抗原特異的BCRを有するマウス (QM マウス、Sp6マウス)を用いてB6. *Yaa*マウス、B6マウスと比較した。その結果、C3^{-/-}*Yaa*マウスはややMZ B細胞の比率を上げる作用を及ぼしたものの、B6. *Yaa*マウスと有意な差は認めず、QM. *Yaa*マウス、Sp6. *Yaa*マウスでのMZ B細胞の比率は有意に上昇していた。以上より*Yaa*マウスにおける抗原抗体反応に伴うMZ B細胞の形成には、補体の役割は部分的であり、*Yaa*遺伝子に関わるMZ B細胞の欠損はBCRの刺激に依存性が強いと考えられた。

A. 研究目的

全身性エリテマトーデス (SLE) モデルである、BXS^Bマウスは、*Yaa*遺伝子とその発症に重要である。*Yaa*遺伝子を導入したC57BL/6 (B6) *Yaa*マウスにおいて認める、脾臓の辺縁帯 (MZ) B細胞の減少に補体とB細胞抗原受容体 (BCR) がどの様に関与しているかを調べる目的で補体 (C3) を欠損するマウス、C3^{-/-}マウス、nitrophenyl acetyl (NP) ハプテンに対し反応を示すBCRを有するQuasi-monoclonal (QM) マウス、またTNP/DNAに反応を示すBCRを有するSp6マウスを用いて解析を行った。

B. 研究方法

①C3^{-/-}マウス、QMマウス及びSp6マウスとB6 *Yaa*マウスの交配により*Yaa*遺伝子を導入しC3^{-/-}*Yaa*マウス、QM *Yaa*マウス、Sp6 *Yaa*マウスを作製。2-3カ月齢で脾臓のMZB細胞についての解析を行った。②Sp6 *Yaa*マウスについてNPハプテンあるいはLPSを投与し、抗TNP/DNA抗体の産生についてELISAで測定した。

(倫理面への配慮)

マウスの実験は、本研究施設の定める動物実験指針に基づいて行った。

C. 研究結果

①C3^{-/-}*Yaa*マウスはややMZ B細胞の比率を上げる作用を及ぼしたものの、B6. *Yaa*マウスと有意な差は認めなかった。QM *Yaa*マウス及びSp6 *Yaa*マウスでのMZ B細胞の比率は減少を認めず、有意に上昇していた。②Sp6マウスでは、NPハプテンの投与により*Yaa*の存在下においても抗TNP/DNA抗体の上昇は認めなかった。LPSの刺激により抗TNP/DNA抗体の産生は、Sp6 *Yaa*マウスにおいても上昇していた。

D. 考察

以上より*Yaa*マウスにおける抗原抗体反応に伴うMZ B細胞の形成には、補体の役割は部分的であり、*Yaa*遺伝子に関わるMZ B細胞の欠損はBCR刺激に依存性が強いと考えられた。Sp6 *Yaa*マウスの抗原刺激の結果により、*Yaa*の存在下では非特異的な抗原刺激に対するB細胞の反応性は保たれているものの、抗原特異的な反応については低下しており、Sp6 *Yaa*マウスにおけるMZB細胞の増加と関係していると考えられた。

E. 結論

*Yaa*を有するB細胞はBCRのシグナルに対して高反応性を有しており、そのために脾臓のMZB細胞が減少していると考えられた。これらのメカニズムについてより詳細に解析することによりSLEの病態解

明および治療戦略につながると思われる。

F. 健康危機情報

該当情報なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Lin Q, Hou R, Sato A, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Nishikawa K, Tsurui H, Amano H, Amano E, Sudo K, Nishimura H, Shirai T, Hirose S. Inhibitory IgG Fc receptor promoter region polymorphism is a key genetic element for murine systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 34(4):356-63, 2010
2. Morimoto S, Watanabe T, Lee S, Amano H, Kanamaru Y, Ohsawa I, Tomino Y, Takasaki Y. Improvement of rapidly progressive lupus nephritis associated MPO-ANCA with tacrolimus. *Mod Rheumatol*. 20(3):291-4, 2010
3. 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(2):574-9, 2010
4. Ando S, Amano H, Amano E, Minowa K, Watanabe T, Nakano S, Nakiri Y, Morimoto S, Tokano Y, Lin Q, Hou R, Ohtsuji M, Tsurui H, Hirose S, Takasaki Y. FTY720 exerts a survival advantage through the prevention of end-stage glomerular inflammation in lupus-prone BXSB mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 394(3):804-10, 2010
5. Nakano S, Morimoto S, Suzuki S, Watanabe T, Amano H, Takasaki Y. Up-regulation of the endoplasmic reticulum transmembrane protein UNC93B in the B cells of patients with active systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 49(5):876-81, 2010
6. Santiago-Raber ML, Amano H, Amano E, Fossati-Jimack L, Swee LK, Rolink A, Izui S. Evidence that Yaa-induced loss of marginal zone B cells is a result of dendritic cell-mediated enhanced activation. *J*

Autoimmun. 34(4):349-55, 2010

7. Matsuyama N, Morimoto S, Tokano Y, Amano H, Nozawa K, Isonuma H, Hashimoto H, Takasaki Y. The long-term prognosis of lupus nephritis patients treated with intravenous cyclophosphamide. *Intern Med*. 49(9):823-8, 2010
8. Santiago-Raber ML *, Amano H * (*equal contributor), Amano E, Baudino L, Otani M, Lin Q, Nimmerjahn F, Verbeek JS, Ravetch JV, Takasaki Y, Hirose S, Izui S. Fcγ receptor-dependent expansion of a hyperactive monocyte subset in lupus-prone mice. *Arthritis Rheum*. 60(8):2408-17, 2009
9. 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(2):145-9, 2008
10. Watanabe T, Suzuki J, Mitsuo A, Nakano S, Tamayama Y, Katagiri A, Amano H, Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. Striking alteration of some populations of T/B cells in systemic lupus erythematosus: relationship to expression of CD62L or some chemokine receptors. *Lupus*. 17(1):26-33, 2008
11. Amano H, Furuhashi N, Tamura N, Tokano Y, Takasaki Y. Hypocomplementemic Urticarial Vasculitis with Jaccoud's Arthropathy and Valvular Heart Disease (case report and review of the literature) *Lupus*. 17(9):837-41, 2008
12. Katagiri A, Morimoto S, Nakiri Y, Nakano S, Mitsuo A, Suzuki J, Amano H, Nozawa K, Asano M, Tokano Y, Hashimoto H, Takasaki Y. Decrease in CD4(+)CD25 (+) and CD8 (+)CD28 (+) T cells in interstitial pneumonitis associated with rheumatic disease. *Mod Rheumatol*. 18(6):562-9, 2008

2. 学会発表

1. 天野浩文, 天野恵理, 安藤誠一郎, 仲野総一郎, 森本真司, 戸叶嘉明, 林青順, 西村裕之, 広瀬幸子, 高崎芳成. BXSB マウスの末梢血単球増加における Fcγ レセプターの役割. 第52回日本リウマチ学会総会・学術集会. 札幌 2008.4.20-23.
2. 林青順, 天野浩文, 天野恵理, 白井俊一, 広瀬幸子. 抑制型 IgG レセプターによる B 細胞分化の制御.

第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 札幌 2008.4.20-23.

3. 仲野総一郎, 森本真司, 鈴木淳, 野沢和久, 天野浩文, 戸叶嘉明, 高崎芳成. 活動期 SLE の B 細胞の TLR9 は抗 DNA 抗体産生に関与する. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 札幌 2008.4.20-23.

4. 箕輪健太郎, 鈴木絢子, 石山健太郎, 鈴木淳, 松下雅和, 小笠原倫大, 天野浩文, 森本真司, 戸叶嘉明, 高崎芳成. ステロイドパルス療法中に多発性骨格筋膿瘍及び多発性皮膚膿瘍が顕在化した SLE 患者の 1 例. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 札幌 2008.4.20-23.

5. 安藤誠一郎, 天野浩文, 天野恵理, 仲野総一郎, 名切裕, 森本真司, 戸叶嘉明, 広瀬幸子, 高崎芳成. BXSB マウスに対する FTY720 の免疫抑制効果. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 札幌 2008.4.20-23.

6. 原 恵, 松下雅和, 小笠原倫大, 縄田益之, 天野浩文, 高崎芳成. ベーチェット病の経過中に大動脈解離を併発した 1 症例. 第 553 回日本内科学会・関東地方会. 東京 2008. 5. 10

7. 原 星子, 李 鍾碩, 多田久里守, 天野浩文, 高崎芳成. ウェゲナー肉芽腫に腹部動脈分枝の血管炎を伴い多発性小腸潰瘍を呈した 1 症例. 第 555 回日本内科学会・関東地方会. 東京 2008. 7. 13

8. Inoue H, Matsudaira R, Nawata M, Ogasawara M, Amano H, Ikeda M, Tamura N, Takasaki Y. Case positive for anti-centromere antibody with vascular involvement in patients with systemic sclerosis. 13th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR 2008) Yokohama. 2008. 9. 23-27

9. Amano H, Ando S, Amano E, Nakano S, Minowa K, Watanabe T, Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. Increased CD14⁺CD62L^{low} CD16^{high} “resident” monocyte subset in systemic lupus erythematosus. 13th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR 2008) Yokohama. 2008. 9. 23-27

10. Suzuki A, Minowa K, Matushita M, Amano H, Tamura N, Tokano Y, Takasaki Y. Two cases of pneumatois cystoids intestinalis associated with Sjogren syndrome. 13th Congress of the Asia Pacific

League of Associations for Rheumatology (APLAR 2008) Yokohama. 2008. 9. 23-27

11. 江原佳奈, 頭山尚子, 松下雅和, 小笠原倫大, 天野浩文, 高崎芳成, 長濱莉莉, 小林則善, 八幡悠里子. IgG λ 型 MGUS を認め急性腎不全をきたしたシェーグレン症候群の 1 例. 第 557 回日本内科学会・関東地方会. 東京 2008.10.4

12. 箕輪健太郎, 天野浩文, 安藤誠一郎, 渡辺崇, 仲野総一郎, 名切裕, 森本真司, 戸叶嘉明, 高崎芳成. 膠原病患者におけるステロイド及び免疫抑制剤, 生物製剤治療による DECTIN-1 の発現の変化についての検討. 第 36 回日本臨床免疫学会. 東京 2008.10.17-18

13. 森本真司, 戸叶嘉明, 天野浩文, 高崎芳成. SLE のステロイドの維持量についての検討. 第 36 回日本臨床免疫学会. 東京 2008.10.17-18

14. Amano H, Ando S, Amano E, Minowa K, Watanabe T, Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. Increased CD14⁺CD62L^{low}CD16^{high} “resident” monocyte subset in systemic lupus erythematosus. The 72nd National Meeting of American College of Rheumatology. San Francisco 2008. 10.24-28.

15. Amano H, Amano E, Lin Q, Ando S, Nishimura H, Morimoto S, Hirose S, Takasaki Y. Fc γ R-dependent expansion of Gr-1⁺ monocyte subset in lupus prone mice. 第 38 回日本免疫学会. 京都 2008.12.1-3

16. Lin Q, Tsurui H, Ohtsuji M, Amano H, Nishimura H, Shirai T, Hirose S. (NZWxBXSB)F1 マウスにおける Fc γ 2b プロモーター領域の多型性の影響/The role of Fc γ 2b promoter reion polymorphism in (NZWxBXSB)F1 mice. 第 38 回日本免疫学会. 京都 2008.12.1-3

17. Ikeda K, Pauley K, Satoh M, Amano H, Fretzler M, Takasaki Y. RNA 干渉関連蛋白複合体に対する自己免疫応答の検討/Autoimmunity targeting RNAi related multiple protein complexes associated with GW/P bodies. 第 38 回日本免疫学会. 京都 2008.12.1-3

18. 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. 東京 2009.4.23-26.

19. 仲野総一郎, 天野浩文, 田嶋美智子, 安藤誠一

- 郎, 箕輪健太郎, 渡邊崇, 森本真司, 戸叶嘉明, 高崎芳成. 全身性エリテマトーデスにおけるUNC93B発現の検討. 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2009.4.23-26.
20. 森本真司, 渡邊崇, 仲野総一郎, 天野浩文, 高崎芳成. 増殖性ループス腎炎におけるタクロリムスの効果の検討<寛解維持療法における有用性を中心に>. 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2009.4.23-26.
21. 箕輪健太郎, 安藤誠一郎, 渡邊崇, 仲野総一郎, 名切裕, 満尾晶子, 天野浩文, 森本真司, 戸叶嘉明, 高崎芳成. 橋本脳症を合併したSLE患者の1例. 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2009.4.23-26.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. 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.
26. 池田貴英, 頭山尚子, 小笠原倫大, 天野浩文, 高崎芳成. 血球貪食症候群を合併した多発性筋炎の1例. 第20回日本リウマチ学会関東支部会. 横浜 2009.12.6.
27. Amano H, Amano E, Ando S, Minowa K, Watanabe T, Nakano S, Morimoto S, Hirose S, Takasaki Y, Izui S. The role of complement and B cell antigen receptor on the development of marginal zone B cells in lupus-prone mice. 14th Congress of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology (APLAR 2010) Hong Kong. 2010. 7. 11-15
28. Minowa K, Amano H, Nakano S, Ando S, Watanabe T, Ishihara N, Nakiri Y, Morimoto S, Tokano Y, Takasaki Y. The hidden activation of plasma cell in SLE patients detected by soluble CD138. 14th International Congress of Immunology Kobe, 2010. 8. 22-27
29. Amano H, Amano E, Ando S, Minowa K, Morimoto S, Hirose S, Izui S, Takasaki Y. The role of complement and B cell antigen receptor on the development of marginal zone B cells in lupus-prone mice. 14th International Congress of Immunology Kobe, 2010. 8. 22-27
30. 天野浩文, 天野恵理, 安藤誠一郎, 箕輪健太郎, 森本真司, 戸叶嘉明, 広瀬幸子, 高崎芳成. SLEモデルマウス脾臓辺縁帯B細胞形成における補体とB細胞抗原受容体の関与. 第53回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
31. 天野浩文, 天野恵理, 安藤誠一郎, 箕輪健太郎, 森本真司, 戸叶嘉明, 広瀬幸子, 高崎芳成. SLEモデルマウス脾臓辺縁帯B細胞形成における補体とB細胞抗原受容体の関与. 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
32. 天野浩文, 李鐘碩, 森本真司, 田村直人, 高崎芳成. シェーグレン症候群に伴う間質性腎炎に対して柴苓湯が有効であった症例. 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
33. 安藤誠一郎, 天野浩文, 天野恵理, 渡邊崇, 名切裕, 森本真司, 戸叶嘉明, 林青順, 大辻希樹, 広瀬幸子, 高崎芳成. FTY720によるBXSJマウスのループス腎炎抑制機序の解析. 第54回日本リウマチ学会総会・学術集会. 神戸 2010.4.22-25.
- 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

全身性エリテマトーデスにおける *Fcgr2b* および *Slam* 遺伝子多型の効果と SLAM シグナルの役割

研究分担者 広瀬 幸子 順天堂大学大学院医学研究科分子病態病理学 准教授

研究要旨 第1染色体テロメアには全身性エリテマトーデス(SLE)感受性遺伝子が複数存在し、中でも *Fcgr2b* および *Slam* 遺伝子多型の関与が注目される。我々は、今までの3年間の研究で、これら両遺伝子が SLE 発症に与える効果は、マウスの遺伝的背景により大きく左右されることを発見した。ヒト SLE の感受性遺伝子解析において、人種差による解析結果の違いが問題となるが、その原因を考える上でも、モデル系での背景遺伝子解析が、今後、重要な研究テーマになると考えられる。

A. 研究目的

我々は、BXS^B マウスの SLE 型 *Fcgr2b* 多型と SLE 型 *Slam* 多型のうち、前者を正常マウス型に入れ換えると、自己抗体産生が抑制されたのに対して、後者を正常マウス型に入れ換えても高度の自己抗体産生に変化が見られなかったことから、BXS^B においては、SLE 型 *Fcgr2b* が SLE 感受性を決定する主要因であるという結果を得た。

一方、正常 B6 マウス系に SLE 型 *Slam* 多型を導入したマウス系には、自己抗体の産生が見られるが、SLE 型 *Fcgr2* 多型を導入しても、自己抗体の産生が見られないとの報告が有る。

そこで、我々は、BXS^B および B6 の遺伝背景で、SLE 型 *Fcgr2b* 多型および SLE 型 *Slam* 多型の自己抗体産生およびこれに伴うループス腎炎発症に対する影響を、コンジェニックマウス系の樹立により解析した。これに加え、*Slam* 遺伝子にコードされる SLAM 分子が SLE 発症に果たす役割を解析するために、SLAM シグナル分子である SLAM-associated protein (SAP) を欠損させた BXS^B マウス系を樹立して解析した。

B. 研究方法

1) BXS^B マウスの SLE 型 *Fcgr2b* 多型を正常 B6 マウス型に入れ替えたコンジェニック BXS^B.IIB^{B6} マウス、および SLE 型 *Slam* 多型を B6 マウス型に入れ換えた BXS^B. $\gamma^{-/-}$ マウスを作製した。このマウス系について、第一染色体テロメア領域の遺伝型を解析した結果を図 1 A に示した。

2) B6 マウスに SLE 型 *Fcgr2b* 多型(Ly17.1)を導入

したコンジェニックマウス(B6.Ly17.1)、これに *Yaa* (Y chromosome-linked autoimmune acceleration) 遺伝子変異を追加導入したコンジェニックマウス(B6.Ly17.1.*Yaa*)を作製した。

3) BXS^B マウスに SAP 欠損遺伝子を導入したコンジェニックマウスを樹立した。SAP 欠損遺伝子は、東北大学の小野博士により見出された、MRL/lpr マウスに自然発症した変異遺伝子で、この欠損は *rpl* (regression of phenotype associated with *lpr*) 遺伝子と名付けられている。これに習い、樹立したマウスを BXS^B.*rpl* と命名した。

(倫理面への配慮)

マウスの実験は、本研究施設の定める動物実験指針に基づいて行なった。

C. 研究結果

1) BXS^B.IIB^{B6} マウスおよび BXS^B. $\gamma^{-/-}$ マウスの解析

両マウス系の第一染色体テロメア領域の遺伝子型と、血中 IgG 量および IgG 抗 DNA 抗体価を図 1 A, B に示した。病態は、BXS^B.IIB^{B6} マウスで有意に抑制されたが、BXS^B. $\gamma^{-/-}$ マウスでは抑制されないことから、BXS^B の自己抗体産生には、SLE 型 *Fcgr2b* 多型が一義的に働いていることが明らかとなった。

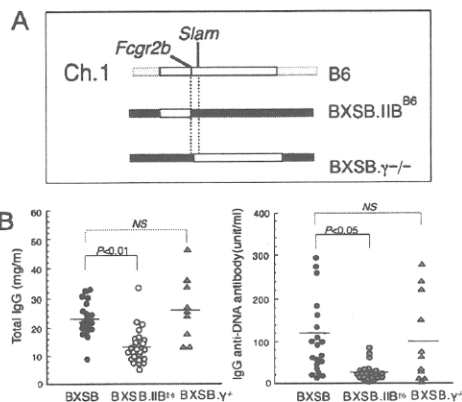


図1 BXSB, BXSB.IIB^{B6} および BXSB. $\gamma^{-/-}$ マウスの第一染色体テロメアの遺伝子型解析結果(A)と血中 IgG 量および IgG 抗 DNA 抗体価(B)の6ヶ月齢における比較。Aにおける白のバーは B6 由来、黒のバーは BXSB 由来であることを示す。

2) B6.Ly17.1.Yaa マウスの解析

B6.Yaa には自己抗体産生、腎炎の発症は見られなかったが、B6.Ly17.1.Yaa には、BXSB マウスと同様に高力価の自己抗体の産生と、高度の腎病変の発症が認められた (図 2A, B)。

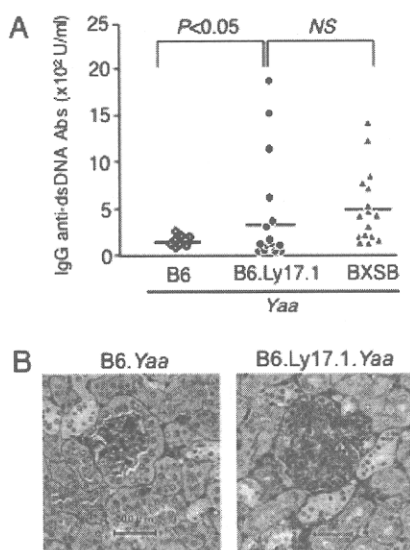


図2 (A) B6.Yaa, B6.Ly17.1.Yaa および BXSB マウスの6ヶ月齢における血中 IgG 抗 dsDNA 抗体価の比較。(B) B6.Yaa および B6.Ly17.1.Yaa マウスの8ヶ月齢における腎糸球体病変の比較(PAS 染色)。

3) BXSB.rpl マウスの解析

BXSB.rpl マウスでは、血中 IgG 抗 DNA 抗体価およびループス腎炎は、本来の BXSB マウスと比較して抑制される傾向にあったが、統計学的な有意性は見られなかった (図 3A, B)。

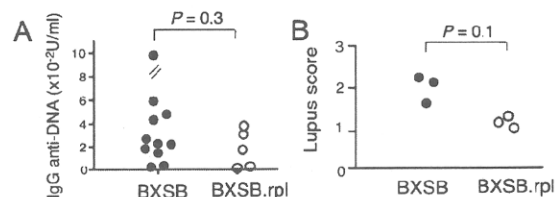


図3 BXSB および BXSB.rpl マウスの血中 IgG 抗 DNA 抗体価(A)およびループス腎炎の程度(B)の6ヶ月齢における比較。ループス腎炎の程度は、病変なしを0、糸球体病変の程度に応じて1, 2, 3 とスコア化し、1匹あたり30個の糸球体の平均スコアで評価した。

D. 考察

BXSB コンジェニックマウス系を用いた解析から、SLE 型 *Fcgr2b* 多型が BXSB の SLE 発症に一義的に働いていることが示された。SLE 型 *Slam* 多型を B6 型に入れ換えた BXSB. $\gamma^{-/-}$ マウスでは、自己抗体産生が抑制されないことから、BXSB マウスの背景においては、SLE 型 *Slam* 多型は自己抗体産生の亢進には関わっていないと考えられた。このマウスは、活性型の IgG Fc 受容体の common γ 鎖を欠損しているが、この欠損は自己抗体産生に影響を与えないことも明らかとなった。しかし、この影響で、腎糸球体への IgG 免疫複合体の沈着は認められるものの、最終的なループス腎炎には至らなかった。

B6 マウスの遺伝背景に SLE 型 *Slam* 多型を導入すると自己抗体産生が誘導されるが、SLE 型 *Fcgr2b* 多型を導入しても自己抗体産生誘導は見られないとの報告がある。しかし、我々が樹立した SLE 型 *Fcgr2b* 多型を導入した B6.Ly17.1 マウスに、さらに BXSB 雄マウス由来の *Yaa* 遺伝子変異を追加導入した B6.Ly17.1.Yaa マウスでは、BXSB と同程度の自己抗体産生と高度のループス腎炎の発症が認められた。B6.Yaa には自己抗体産生は認められないことから、SLE 型 *Fcgr2b* 多型(Ly17.1)と *Yaa* 変異遺伝子との epistatic な働きが SLE 発症に関与

している。

T細胞における SLAM 分子のシグナルは SAP を介して伝達され、SAP は Fyn をリクルートすることで、TCR のシグナルを制御している。近年、T細胞依存性の SLE 病態は、SAP 欠損により、ほぼ完全に抑制されると報告されている。我々が SAP 欠損遺伝子として BXSB マウスに同入した *rpl* 遺伝子は、実際に MRL/lpr の SLE 病態を抑制する自然発生の突然変異遺伝子として、東北大学の小野博士が見出した遺伝子である。

BXSB マウスは、*Yaa* 変異遺伝子の影響で雄に高度の SLE が発症するモデルである。*Yaa* は、TLR7 コード遺伝子を含む X 染色体の一部が Y 染色体上に重複して生じた変異で、*Yaa* の自己免疫促進効果は B 細胞の活性化を通してもたらされる。今回の解析から、この B 細胞依存性の SLE 病態に対する SAP 欠損の効果は、T 細胞依存性の SLE の場合に比較して、あまり顕著ではないことが明らかとなった。今後、T 細胞依存性および B 細胞依存性 SLE における SLAM シグナルの役割を細胞・分子レベルで明らかにしたい。

E. 結論

SLE 型 *Fcgr2b* 多型は BXSB マウスの SLE 感受性遺伝子として一義的に働いているが、SLE 型 *Slam* 多型は影響を及ぼさない。一方、正常 B6 マウスでの解析では、SLE 型 *Slam* 多型を導入することで自己抗体産生を誘導できると報告されており、我々の解析からは、SLE 型 *Fcgr2b* 多型も *Yaa* 変異遺伝子との epistatic な効果で SLE 発症を誘導できることが示された。

BXSB の SLE は、SLE 型 *Slam* 多型の影響を受けないが、T 細胞の SLAM シグナルを欠損する BXSB.*rpl* では、自己抗体産生やループス腎炎が抑制される傾向にあった。しかし T 細胞依存性 SLE が SAP 欠損でほぼ完全に抑制されるのに対して、B 細胞依存性の BXSB マウスの SLE では、SAP 欠損のない BXSB マウスとの間に、統計的な有意差は見られなかった。今後、マウスの数を増やして、SAP 欠損が BXSB マウスの SLE 病態に対する影響を、細胞・分子レベルで詳細に確認する予定である。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Lin Q, Hou R, Sato A, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Nishikawa K, Tsurui H, Amano H, Amano E, Sudo K, Nishimura H, Shirai T, Hirose S. Inhibitory IgG Fc receptor promoter region polymorphism is a key genetic element for systemic lupus erythematosus. *J. Autoimmun.* 34: 356-363, 2010.
2. Shimura E, Hozumi N, Kanagawa O, Chambon P, Freddy Radtke F, Hirose S, Nakano N. Epidermal precancerous cellular dysregulation triggers inhabitant $\gamma\delta$ T cells to initiate immune responses. *Int. Immunol.* 22:329-340, 2010.
3. Ando S, Amano H, Amano E, Minowa K, Watanabe T, Nakano S, Nakiri Y, Morimoto S, Tokano Y, Lin Q, Hou R, Ohtsuji M, Tsurui H, Hirose S, Takasaki Y. FTY720 exerts a survival advantage through the prevention of end-stage glomerular inflammation in lupus-prone BXSB mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 249:804-810, 2010.
4. Hou R, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Zhang L, Adachi T, Hirose S, and Tsubata T. Centromeric interval of chromosome 4 derived from C57BL/6 mice accelerates type 1 diabetes in NOD.CD72^b congenic mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* In press, 2009.
5. Abe Y, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Lin Q, Tsurui H, Nakae S, Shirai T, Sudo K, Hirose S. Ankylosing enthesitis associated with up-regulated IFN- γ and IL-17 production in (BXSB x NZB) F1 male mice; a new mouse model. *Mod. Rheum.* 19:316-322, 2009.
6. Santiago-Raber M-L, Amano H, Amano E, Baudino L, Otani M, Lin Q, Nimmerjahn F, Sjeff Verbeek J, Ravetch JV, Takasaki Y, Hirose S, Izui S. Fc γ R-dependent expansion of a hyperactive monocyte subset in lupus-prone mice. *Arthritis Rheum.* 60:2408-2417, 2009.
7. Kamimura Y, Kobori H, Piao J, Hashiguchi M, Matsumoto K, Hirose S, Azuma M. Possible involvement of soluble B7-H4 in T cell-mediated inflammatory immune responses. *Biochem. Biophys.*

Res. Commun. 389:349-353, 2009.

8. Tsukamoto H, Ohtsuji M, Shiroiwa 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.* 180:4530-4539, 2008.

9. Moriyama Y, Sekine C, Koyanagi A, Koyama N, Ogata H, Chiba S, Hirose S, Okumura K, and Yagita H. Delta-like 1 is essential for the maintenance of marginal zone B cells in normal mice but not in autoimmune mice. *Int. Immunol.* 20:763-773, 2008.

10. Baudino L, Yoshinobu K, Morito N, Kikuchi S, Fossati-Jimack L, Morley BJ, Vyse TJ, Hirose S, Jørgensen TN, Tucker RM, Roark CL, Kotzin BL, Evans LH, and Izui S. Dissection of genetic mechanisms governing the expression of serum retroviral gp70 implicated in murine lupus nephritis. *J. Immunol.* 181:2846-2854, 2008.

11. Okamoto A, Fujio K, van Rooijen N, Tsuno NH, Takahashi K, Tsurui H, Hirose S, Elkon KB, and Yamamoto K. Splenic phagocytes promotes to nucleosomes in (NZB x NZW) F1 mice. *J. Immunol.* 181:5264-5271, 2008.

2. 学会発表

1. 天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、仲野総一郎、森本真司、戸叶嘉明、林青順、西村裕之、広瀬幸子、高崎芳成. BXS_B マウスの末梢血単球増加における Fc γ レセプターの役割. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会記録・プログラム 382 頁 2008

2. 安藤誠一郎、天野浩文、天野恵理、仲野総一郎、名切裕、森本真司、戸叶嘉明、広瀬幸子、高崎芳成. BXS_B マウスに対する FTY720 の免疫抑制効果. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会 プログラム 383 頁 2008

3. 藤尾圭志、岡本明子、鶴井博理、広瀬幸子、山本一彦. SLE 動物モデルにおける T 細胞の活性化. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会プログラム 160 頁 2008

4. 林青順、天野浩文、天野恵理、白井俊一、広瀬幸子. 抑制型 IgG Fc レセプターによる B 細胞分

化の制御. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会 プログラム 239 頁 2008

5. 大辻希樹、大辻奈穂美、林青順、鶴井博理、中江進、西村裕之、白井俊一、須藤カツ子、広瀬幸子. IL-17 および IFN- γ 産生亢進を伴う新しい強直性関節炎モデル. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会記録 108 頁 2008

6. Tsurui H, Hirose S. Phagocytotic behavior of macrophages and dendritic cells in central nervous system based on the auto-fluorescence specific for phagocytosis. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会記録 116 頁 2008

7. 尾畑賢臣、池田賢一、小寺洋、大辻希樹、広瀬幸子、西村裕之. アスパラギン除去によって誘導される免疫抑制の細胞機序. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会記録 128 頁 2008

8. Amano H, Amano E, Lin Q, Anso S, Nishimura H, Morimoto S, Hirose S, Takasaki Y. Fc γ R-dependent expansion of Gr-1-monocyte subset in lupus prone mice. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会記録 133 頁 2008

9. Kitabatake M, Igarashi H, Toda T, Ohtsuji M, Tsurui H, Hirose S, sakaguchi N. NZB-like autoimmunity was induced in the transgenic mice of B cell survival molecule G5PR. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会記録 133 頁 2008

10. 天野浩文、天野恵理、仲野総一郎、安藤誠一郎、箕輪健太郎、渡辺崇、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

11. 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

12. 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

13. Tsurui H, Hirose S. 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

14. Wang Y, Ito S, Suzuki M, Sugihara M, Hayashi T, Goto D, Matsumoto I, Lin Q, Hirose S, Sumida T. 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

15. 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

16. Hou R, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Zhang L, Adachi T, Hirose S, Tsubata T. Centromeric interval of chromosome 4 derived from C57BL/6 mice accelerates type I diabetes in NOD.CD72^b congenic mice. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会記録 162 頁 2009

17. Obata M, Fujii M, Kodera Y, Ohtsuji M, Shirai T, Hirose S, Nishimura H. 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

18. Sati Y, Hou R, Lin Q, Ohtsuji M, Adachi T, Hirose S, Tsubata T. 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

19. Xu M, Hou R, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Adachi T, Hirose S, Tsubata T. 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

20. Lin Q, Hou R, Sato A, Tsurui H, Ohtsuji M, Ohtsuji N, Nishikawa K, Nishimura H, Sudo K, Shirai T, Hirose S. *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

21. 北嶋正大、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

22. 広瀬幸子 教育講演 SLE 感受性遺伝子による正と負の制御: 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 198 頁 2010/4/22-25 神戸

23. 林 青順、大辻希樹、天野浩文、白井俊一、広瀬幸子 *Fcgr2b* および *Slam* 遺伝子多型と SLE 感受性との解析: 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 454 頁 2010/4/22-25 神戸

24. 王 英歌、伊藤 聡、鈴木穂積、千野裕介、杉原誠人、林 太智、後藤大輔、松本 功、広瀬幸子、林 青順、住田孝之 Laser-microdissection 法による腎内浸潤 T 細胞の解析: 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 450 頁 2010/4/22-25 神戸

25. 天野浩文、天野恵理、安藤誠一郎、箕輪健太郎、森本真司、戸叶嘉明、広瀬幸子、高崎芳成 SLE モデルマウス脾臓辺縁帯 B 細胞形成における補体と B 細胞抗原受容体の関与: 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 564 頁 2010/4/22-25 神戸

26. 安藤誠一郎、天野浩文、天野恵理、渡邊 崇、名切 裕、森本真司、戸叶嘉明、林 青順、大辻希樹、広瀬幸子、高崎芳成 FTY720 による BXS マウスループス腎炎抑制機序の解析: 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 抄録集 565 頁 2010/4/22-25 神戸

27. Hou R, Sato A, Lin Q, Ohtsuji M, Adachi T, Hirose S, and Tsubata T. Effect of CD72^c allotype on SLE susceptibility. 14th International Congress of Immunology. Int. Immunol. 22 (Suppl. 1):i126, 2010.

28. Kitabatake M, Igarashi H, Toda T, Ohtsuji M, Tsurui H, Hirose S, Sakaguchi N. Over-expression of protein phosphatase subunit G5PR that suppresses JNK-mediated apoptosis caused the increase of B-1 cells associated with autoimmunity. 14th International Congress of Immunology. Int. Immunol. 22 (Suppl. 1):i119, 2010.

29. Amano H, Amano E, Ando S, Minowa K, Morimoto S, Hirose S, Izui S, Takasaki Y. The role of complement and B cell antigen receptor on the development of marginal zone B cells in lupus-prone mice. 14th International Congress of Immunology. Int. Immunol. 22 (Suppl. 1):i124, 2010.

30. Hirose S, Lin Q, Sato A, Hou R, Ohtsuji M, Tsurui

H, Nishimura H, Shirai T. Genetic dissection of the effect of *Fcgr2b* polymorphism on systemic lupus erythematosus. 14th International Congress of Immunology. Int. Immunol. 22 (Suppl. 1):i125, 2010.

31. Tsurui H, Hirose S. Phagocytosis specific autofluorescence in marginal metalophilic macrophage and marginal zone macrophage. 14th International Congress of Immunology. Int. Immunol. 22 (Suppl. 1):iii39, 2010.

32. Obata M, Fujiwara R, Fujii T, Kodera Y, Ohtsuji M, Shirai T, Hirose S, Nishimura H. Mechanism of Th-cell tolerance induced with the tolerogenic protein antigen conjugated with polyethylene glycol. 14th International Congress of Immunology. Int. Immunol. 22 (Suppl. 1):iv56, 2010.

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）

総合研究報告書

全身性エリテマトーデス感受性遺伝子探索に関する研究

研究分担者 山田 亮 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨 自己免疫疾患の代表である全身性エリテマトーデス（SLE）の発病リスク遺伝子多型を探索するための統計解析手法に関する研究を進め、その成果を用いてゲノムワイドアソシエーションスタディを遂行し、SLE 関連遺伝子を同定した。

A. 研究目的

全身性ループスエリテマトーデス(SLE)の発病感受性遺伝子多型をゲノムワイドケースコントロール関連解析(GWAS)にて探索する。

B. 研究方法

全身性エリテマトーデスを標的に、ゲノムワイド関連解析を行うための解析手法・ツールを開発し、解析ツールの実装を行った。また、一塩基多型とコピーナンバー多型に共通する、カテゴリカルジェノタイプにおけるケース・コントロール検定手法に関する理論的背景を究明した。

また、本研究班の臨床系機関所属班員に広く協力を呼びかけ、6年間にわたり、SLE患者DNAを収集した。また、臨床情報に関しては、特定疾患臨床調査個人票を活用し、その登録項目に則り情報を収集した。コントロールにはバイオバンクジャパン検体を用いた。1塩基多型のタイピングはイルミナ社のGWAS用SNPチップを用いて、GWASを行った。解析にあたっては、個々のSNPにつき、発病との関連(GWAS)ならびに、近傍遺伝子の発現量との関連(eQTL)とを組み合わせスクリーニングし、検出多型に関してレプリケーション関連解析を実施した。レプリケーション解析には、班とは別に収集された国内検体を用いた。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針に準拠した。

C. 研究結果

平成20年度には、2x3分割表検定の構造を理論的に解釈することを通じて、生物現象・疾患リ

スク発生を標的にしてSNPを用いるときに適当な検定手法を考案し、その理論的背景を明らかにし、アプリケーションを実装し公開した。平成21年度には、3ジェノタイプの頻度分布の図示方法として、集団遺伝学で用いられてきたde Finetti diagramを2x3表用に拡張し、新規図示方法Double Trianglediagramを考案した。さらに、SNPの2x3分割表に適用される複数の検定統計量が同diagram上での挙動を明らかにした。平成22年度には、全1048検体(平成22年10月19日現在)のDNAサンプルを収集し、このうち931名分の臨床情報を収集した。GWASには、このうち891名のサンプルを利用した。SLE関連多型として、既報の(STAT4, HLA領域, TNFAIP3, HIP1, IRF5, BLK)がGWASにおいて日本人においても強く関連することを確認した。また、そのうちの半数は、eQTLにおいて遺伝子発現に影響することを確認した。SLEの発病関連領域として既報領域以外に1領域を同定した。

D. 考察

SLEのGWAS遂行のための解析ツールを作成・公開し、また、同遺伝子解析のための解析理論に関する研究成果を発表するとともに、当班による検体・臨床情報収集に基づくGWASの実施を行った。

E. 結論

複合遺伝性疾患の一つであるSLEに関し、因子解析のための解析の理論的研究と、その実行ツールの作成・公開を行い、それを活用し、SLEの発病関連遺伝因子の同定に至った。また、日本人SLE

患者 1000 名超のゲノム DNA と臨床情報を今後の解析に活用できる形で収集しえたことは意義が大きい。

F. 健康危機情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

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 nonsynonymous single-nucleotide polymorphism in TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Arthritis Rheum.* 62:574-9. 2010.
2. Hirose K, Kawaguchi T, Matsuda F, Yamada R. Estimation of P-value of MAX test with double triangle diagram for 2 x 3 SNP case-control tables. *Genet Epidemiol.* 34:543-51, 2010.
3. Takahashi, M., Saenko, V. A., Rogounovitch, T. I., Kawaguchi, T., Drozd, V. M., Takigawa-Imamura, H., Akulevich, N. M., Ratanajaraya, C., Mitsutake, N., Takamura, N., Danilova, L. I., Lushchik, M. L., Demidchik, Y. E., Heath, S., Yamada, R., Lathrop, M., Matsuda, F., Yamashita, S. The FOXE1 locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. *Hum Mol Genet* 19: 2516-23, 2010.
4. Nakanishi, H., Hayashi, H., Yamada, R., Yamashiro, K., Nakata, I., Shimada, N., Ohno-Matsui, K., Mochizuki, M., Ozaki, M., Yoshitake, S., Kuriyama, S., Saito, M., Iida, T., Matsuo, K., Matsuda, F., Yoshimura, N. Single Nucleotide Polymorphisms in Promoter Region of Matrix Metalloproteinase 1, 2, and 3 in Japanese with High Myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 4432-6, 2010.
5. Y Kochi, A Suzuki, R Yamada, K Yamamoto. Genetics of rheumatoid arthritis : underlying evidence of ethnic differences. *J Autoimmun* 32: 3-4. 158-62, 2009.
6. H Nakanishi, R Yamada, N Gotoh, H Hayashi, A Otani, A Tsujikawa, K Yamashiro, N Shimada, K Ohno-Matsui, M Mochizuki, M Saito, K Saito, T Iida, F Matsuda, N Yoshimura. Absence of association between COL1A1 polymorphisms and high myopia in the Japanese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50: 2. 544-50, 2009.
7. Y Kochi, K Myouzen, R Yamada, A Suzuki, T Kurosaki, Y Nakamura, K Yamamoto. FCRL3, an autoimmune susceptibility gene, has inhibitory potential on B-cell receptor-mediated signaling. *J Immunol* 183: 9. 5502-10, 2009.
8. N Gotoh, H Nakanishi, H Hayashi, R Yamada, A Otani, A Tsujikawa, K Yamashiro, H Tamura, M Saito, K Saito, T Iida, F Matsuda, N Yoshimura. ARMS2 (LOC387715) variants in Japanese patients with exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol* 147: 6. 1037-41, 2009.
9. H Nakanishi, R Yamada, N Gotoh, H Hayashi, K Yamashiro, N Shimada, K Ohno-Matsui, M Mochizuki, M Saito, T Iida, K Matsuo, K Tajima, N Yoshimura, F Matsuda. A genome-wide association analysis identified a novel susceptible locus for pathological myopia at 11q24.1. *PLoS Genet* 5: 9, 2009.
10. Y Okada, A Suzuki, R Yamada, Y Kochi, K Shimane, K Myouzen, M Kubo, Y Nakamura, K Yamamoto. HLA-DRB1*0901 lowers anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009.
11. Yuta Kochi, Keiko Myouzen, Ryo Yamada, Akari Suzuki, Tomohiro Kurosaki, Yusuke Nakamura, Kazuhiko Yamamoto. FCRL3, an autoimmune susceptibility gene, has inhibitory potential on B-cell receptor-mediated signaling. *J Immunol* 183: 9. 5502-5510, 2009.
12. Okada, Suzuki, Yamada, Kochi, Shimane, Myouzen, Kubo, Nakamura, Yamamoto (2009) HLA-DRB1*0901 lowers anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009
13. R Yamada, Y Okada. An optimal dose-effect mode trend test for SNP genotype tables. *Genet*

Epidemiol 33: 2. 114-127, 2009.

14. R Yamada. How to measure genetic heterogeneity
Journal of Physics. : Conference Series 197, 2009.

15. Y Okada, R Yamada, A Suzuki, Y Kochi, K Shimane, K Myouzen, M Kubo, Y Nakamura, K Yamamoto. 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: 12. 3582-3590, 2009.

16. K Shimane, Y Kochi, R Yamada, Y Okada, A Suzuki, A Miyatake, M Kubo, Y Nakamura, K Yamamoto. A single nucleotide polymorphism in the IRF5 promoter region is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in the Japanese population Ann Rheum Dis 68: 3. 377-83, 2009.

17. M Wada, H Marusawa, R Yamada, A Nasu, Y Osaki, M Kudo, M Nabeshima, Y Fukuda, T Chiba, F Matsuda. Association of genetic polymorphisms with interferon-induced haematologic adverse effects in chronic hepatitis C patients J Viral Hepat 16: 6. 388-96, 2009.

18. Gotoh N, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N, Iida T. Manganese Superoxide Dismutase Gene (SOD2) Polymorphism and Exudative Age-related Macular Degeneration in the Japanese Population. Am J Ophthalmol 146:146, 2008.

19. Nakayama-Hamada M, Suzuki A, Furukawa H, Yamada R, Yamamoto K. Citrullinated fibrinogen inhibits thrombin-catalyzed fibrin polymerization. J Biochem 144:393-8, 2008.

20. Okada Y, Mori M, Yamada R, Suzuki A, Kobayashi K, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. SLC22A4 Polymorphism and Rheumatoid Arthritis Susceptibility: A Replication Study in a Japanese Population and a Metaanalysis. J Rheumatol 35:1273-8, 2008.

21. Shimane K, Kochi Y, Yamada R, Okada Y, Suzuki A, Miyatake A, Kubo M, Nakamura Y, Yamamoto K. A single nucleotide polymorphism in the IRF5 promoter region is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in the Japanese patients. Ann Rheum Dis. 2008

22. Suzuki A, Yamada R, Kochi Y, Sawada T, Okada Y, Matsuda K, Kamatani Y, Mori M, Shimane K, Hirabayashi Y and others. Functional SNPs in CD244 increase the risk of rheumatoid arthritis in a Japanese population. Nat Genet 40:1224-9, 2008.

23. Yamada R. Primer: SNP-associated studies and what they can teach us. Nat Clin Pract Rheumatol 4:210-7, 2008.

24. Yamada R, Okada Y. An optimal dose-effect mode trend test for SNP genotype tables. Genet Epidemiol. 2008

2. 学会発表
省略

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

GRAIL による免疫応答調節機構の解析

研究分担者 三宅 幸子 国立精神・神経センター 神経研究所免疫研究部 室長

研究要旨 全身性エリテマトーデス (SLE) の病態解明と新規治療の標的を探索することを目的とし、免疫寛容維持に重要な分子機構についての研究を行った。蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動法を用いて、免疫不応答状態（アナジー）において、発現の低下している蛋白質を同定した。それらの蛋白質の中から、RhoGDI, Coronin 1a, Arp2/3 complex などの細胞骨格に関する分子を、GRAIL の基質として同定した。特にこれらの分子は、免疫シナプスの形成に関与し、GRAIL の T 細胞機能抑制の機序として、免疫シナプス形成の阻害が重要であると考えられた。GRAIL ノックアウトマウスでは、B6 バックグラウンドでは T 細胞では増殖反応の亢進が見られ、NOD マウスにバッククロスしたものは、野生型に比較して早期に糖尿病を発症した。

A. 研究目的

SLE などの自己免疫疾患においては、自己応答性リンパ球の自己寛容破綻が病態に重要である。我々は、免疫寛容に重要な分子として注目されている E3 リガーゼのひとつである GRAIL について、新たな基質を同定し、その機能を検討したので報告する。

B. 研究方法

DO11.10 の脾臓細胞を OVA 蛋白で刺激し、10 日後に ionomycin 処理、ionomycin+cyclosporin A 処理群を比較し、蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動 (2D Difference Gel Electrophoresis: 2D DIGE) 技術を用いた定量的な蛋白質発現差異解析により蛋白質発現が低下していた分子の中で、GRAIL の基質を同定した。Arp2/3-5 ならびに coronin 1A について、DO11.10 CD4⁺ T 細胞と OVA₃₂₃₋₃₃₉ ペプチドをパルスした A20 B 細胞との間に形成される免疫シナプスについて、その形成に与える影響を検討した。また、GRAIL の遺伝子欠損マウスを作製し、フェノタイプならびに自己免疫モデルについて解析を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験に関しては、当研究所の動物実験規定に従い、実験計画書の承認を受けて行った。

C. 研究結果

上記 2D DIGE 法により、アナジー状態で特異的に発現が低下する蛋白について、未知、既知を含め約

30 の蛋白質を同定した。その中で、GRAIL の基質となる蛋白質として、RhoGDI α & β , IMAP4, Arp2/3-5, coronin1a を同定した。アナジー T 細胞では、免疫シナプスにおける F-アクチンの集積が低下し、Arp2/3-5 ならびに coronin 1A の集積も低下していた。GRAIL を T 細胞に強制発現させると、やはり免疫シナプスにおいて F-アクチンと同時に Arp2/3-5 ならびに coronin 1A の集積が低下し、免疫シナプス形成が阻害された。Arp2/3-5 または coronin 1A の T 細胞における発現を siRNA を用いて低下させると、免疫シナプスにおけるラメリポディア形成を阻害した。GRAIL を強制発現すると、免疫シナプスにおけるラメリポディア形成を阻害した。また、GRAIL ノックアウトマウスについては、NOD マウスにバッククロスすると、野生型に比較して早期に糖尿病を発症した。

D. 考察

GRAIL は、同定された基質から、細胞骨格系の制御に重要な E3 キナーゼであると考えられた。そして、Arp2/3-5 や coronin1a といったアクチン再構成に関与する蛋白質が T 細胞アナジーの誘導及び維持に関与していることが明らかとなった。特にこれらの分子は、免疫シナプスの形成に関与し、GRAIL の T 細胞機能抑制の機序として、免疫シナプス形成の阻害が重要であると考えられた。GRAIL ノックアウトマウスは、NOD マウスにバッククロスしたものは野生型に比較して早期に糖尿病を発症したことが

ら、GRAIL 分子は自然発症自己免疫モデルにおいても、その病態形成に関与することがわかり、今後はひと自己免疫疾患における役割についての研究が必要であろう。

E. 結論

アナジーに重要な GRAIL E3 キナーゼの基質として、coronin 1A, Arp2/3-5 を同定した。GRAIL はアクチンの再構成に重要な分子を標的とし、免疫シナプスの形成を制御することにより T 細胞の反応性を決定することが明らかとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

I 論文発表

原著

1. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Toda T, Yamamura T. Interleukin 6 signaling promotes anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica. Proc Natl Acad Sci USA in press.
2. Noto D, Takahashi K, Miyake S, Yamada M. In vitro differentiation of lineage-negative bone marrow cells into microglia-like cells. Eur J Neurosci 31:1155-63, 2010
3. Theil MM, Miyake S, Mizuno M, Tomi C, Croxford J, Hosoda H, Theil J, von Horsten S, Yokote H, Chiba A, Lin Y, Oki S, Akamizu T, Kanagawa K, Yamamura T: Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by Ghrelin. J Immunol. 83(4):2859-66, 2009
4. Fujita M, Otsuka T, Mizuno M, Tomi C, Yamamura T, Miyake S. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 modulates experimental autoimmune encephalomyelitis via iNKT cell-dependent mechanism. Ame J Patho 175(3):1116-23, 2009
5. Dondji B, Deak E, Goldsmith-Pestana K, Perez-Jimenez E, Esteban M, Miyake S, Yamamura T, McMahon-Pratt D: Intradermal NKT cell activation during DNA priming in heterologous prime-boost

vaccination enhances T cell responses and protection against Leishmania. Eur J Immunol 38:706-19, 2008

6. Doi Y, Oki S, Ozawa T, Hohjoh H, Miyake S, Yamamura T: Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. Proc Natl Acad Sci USA 105:8381-8386, 2008
7. Sekine C, Sugihara T, Miyake S, Hirai H, Yoshida M, Miyasaka N, Kohsaka H. Successful treatment of animal models of rheumatoid arthritis with small-molecule cyclin-dependent kinase inhibitors. J Immunol 180:1954-1961, 2008
8. Yokote H, Miyake S, Croxford JL, Oki S, Mizusawa H, Yamamura T. NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora. Ame J Patho 173:1714-23, 2008

総説

1. 三宅幸子: 腸管免疫と神経免疫のクロストーク. Clinical Neuroscience 28(2):154-155, 2010
2. 三宅幸子: NKT 細胞と疾患. 臨床リウマチ 22(2):154-160, 2010
3. 三宅幸子: MAIT 細胞と自己免疫疾患. リウマチ 44(3):361-364, 2010
4. 三宅幸子, 山村隆: NKT 細胞と多発性硬化症. Mebio. 27(6):95-101, 2010
5. Sakuishi K, Miyake S, Yamamura T: Role of NKT cells in multiple sclerosis: In a quest to understand and overcome their highly efficient double edged swords. Molecular Basis of Multiple Sclerosis. The Immune System Series "Results and Problems in Cell Differentiation" Gramm U, ed, Springer-Verlag, Heidelberg, 51:127-147, 2010
6. 三宅幸子: Carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 と自己免疫. 臨床免疫・アレルギー科 51(4):339-342, 2009
7. 千葉麻子, 三宅幸子: NKT 細胞と関節リウマチ. リウマチ科 41(4):410-416, 2009
8. 山村隆, 横手裕明, 三宅幸子: 腸内細菌と自己免疫. Neurological Science 17(3):10-11, 2009
9. 三宅幸子: 新しいパラダイム? Th17 と神経免疫疾患. BIO Clinica 24(9):23-26, 2009
10. Miyake S, Yamamura T. Ghrelin: friend or foe for

neuroinflammation. *Deicov Med* 8(41):64-67, 2009

11. Okamoto T, Ogawa M, Lin Y, Murata M, Miyake S, Yamamura T: Treatment of neuromyelitis optica: Current debate. *Therapeutic Advances Neurol* 1 (1):43-52, 2008

12. Araki M, Miyake S, Yamamura T: Synthetic glycolipid ligands for human iNKT cells as potential therapeutic agents for immunotherapy. *Curr Med Chem* 15(23):2337-2345, 2008

13. 三宅幸子: NKT 細胞と自己免疫. *医学のあゆみ* 225:145-150, 2008

14. 三宅幸子: RA と NKT 細胞. *Frontiers in Rheum. Immunol.* 2:24-27, 2008

15. 三宅幸子: 自己免疫病態とその制御. *日本臨床* 66:1073-1079, 2008

16. 三宅幸子, 山村隆: 実験的自己免疫性脳脊髄炎. *日本チャールズリバーニューズレター* 17(2):1-8, 2008

II 学会発表

国際学会

1. Chiba A, Tajima R, Miyazaki Y, Ichikawa D, Yamamura T, Miyake S: The role of MR-1 restricted MAIT cells in the pathogenesis of murines models of arthritis. 10th Annual Conference of FOCIS, Boston, June 24, 2010 (*Clinical Immunology*, 135S:S52, 2010)

2. Miyake S. MAIT cells in autoimmunity *Neuroimmunology Kyoto Conference 2010*, Kyoto, August 18, 2010

3. 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. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug 24, 2010

4. Ogura H, Satoh M, Gilfillan S, Miyake S, Onoe K, Iwabuchi K: MR1-restricted NKT cells exhibit beneficial role for the development of atherosclerosis. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug 23, 2010

5. Lin Y, Miyake S, Yamamura T: Dominancy of encephalitogenic peptide itself directs sustainable regulation of a model of multiple sclerosis, through induction of "armoured" regulatory T cells. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug 23,

2010

6. Chihara N, Sato W, Aranami T, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Yamamura T: Auto-reactive anti-aquaporin 4 antibodies are secreted from peripheral plasma cell-like B cells in neuromyelitis optica. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug 23, 2010

7. Noto D, Kazuya T, Yamamura T, Masahito Y, Miyake S: In vitro differentiation of lineage-negative bone marrow cells and monocyte into microglia-like cells. 10th International Congress of Neuroimmunology, Barcelona, Nov15, 2010

8. Chiba A, Miyazaki Y, Ryohsuke T, Miho M, Tomi C, , Ichikawa D, Iraide A, Yamamura T, Vandebroek K, Miyake S: Celecoxib analogue lacking COX-2 inhibitory activity suppresses inflammatory disorders by inhibiting inflammatory cytokines. 10th International Congress of Neuroimmunology, Barcelona, Nov15, 2010

9. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Toda T, Yamamura T: Plasma cell-like B cells produce aquaporin 4 autoantibody in neuromyelitis optica. 10th International Congress of Neuroimmunology, Barcelona, Nov15, 2010

10. Lin Y, Miyake S, Yamamura T: Dominancy of encephalitogenic peptide itself directs sustainable regulation of a model of multiple sclerosis, by induction of "armoured" T regs. 10th International Congress of Neuroimmunology, Barcelona, Nov15, 2010

11. Chiba A, Ryohsuke T, Miho M, Tomi C, , Ichikawa D, Iraide A, Yamamura T, Vandebroek K, Miyake S: Celecoxib analogue lacking COX-2 inhibitory activity inhibits arthritis by suppressing IL-23 and inflammatory cytokines. American College of Rheumatology 73th Annual Scientific Meeting, Atlanta, Georgia, November 7, 2010 (*Arthritis Rheum.* 62:S371, 2010)

12. Chiba A, Tajima R, Miyazaki Y, Ichikawa D, Yamamura T, Miyake S: Mucosal associated invariant T cells contribute to the pathogenesis of arthritis. American College of Rheumatology 73th Annual Scientific Meeting, Atlanta, Georgia, November 11, 2010 (*Arthritis Rheum.* 62:S938, 2010)

13. Miyake S, Yokote H, Lin Y, Yamamura T. The role of regulatory cells in the regulation of EAE. 2nd