

- 4) 上阪 等 Osteo-myo-immunology? -多発性筋炎と我々のモデルマウス- 第5回 Osteoimmunology Forum 平成20年2月16日 東京
- 5) 上阪 等 多発性筋炎/皮膚筋炎 -膠原病内科医の見た目- 第16回神経免疫フォーラム 平成20年3月22日 油谷湾(山口)
- 6) 杉原毅彦、沖山奈緒子、渡部直人、鈴木美穂子、宮坂信之、上阪 等 新規多発性筋炎モデルマウスに対するIL-1阻害療法の検討 東京 2008年10月17-18日 第36回日本臨床免疫学会
- 7) Okiyama N, Sugihara T, Yokozeki H, Miyasaka N, Kohsaka H, Effector CD8 T cells and local innate immunity need to act in concert for development of autoimmune myositis., *Keystone Symposia*, Banff, Alberta, April 1, 2009
- 8) 沖山奈緒子、杉原毅彦、横関博雄、宮坂信之、上阪 等、自己免疫性筋炎発症には自己反応性T細胞と局所自然免疫の協調が必要である、第53回日本リウマチ学会総会・学術集会、東京、2009年4月24日
- 9) Okiyama N, Sugihara T, Yokozeki H, Miyasaka N, Kohsaka H, Effector CD8 T cells and local innate immunity need to act in concert for development of autoimmune myositis., *World Breckenridge, Colorado d Congress on Inflammation*, Tokyo, Japan, July 7, 2009
- 10) 上阪 等、沖山奈緒子、杉原毅彦、宮坂信之、新たな多発性筋炎動物モデルによる治療標的分子の探索、第59回日本アレルギー学会秋季学術大会、秋田、2009年10月30日
- 11) 沖山奈緒子、杉原毅彦、横関博雄、宮坂信之、上阪 等、新たな多発性筋炎モデルにみる獲得免疫と自然免疫の協調関係、第37回日本臨床免疫学会総会、東京、2009年11月13日
- 12) 上阪 等 ガンマグロブリン大量療法の科学 第51回日本小児血液学会/第25回日本小児がん学会 東京 平成21年11月27-29日
- 13) Okiyama N, Sugihara T, Yokozeki H, Miyasaka N, Kohsaka H, Identification of CD8 T cell epitopes in skeletal muscle C-protein that induces experimental myositis of mice., *Keystone Symposia*, Breckenridge, Colorado, February 27, 2010
- 10) Hitoshi Kohsaka Autoaggressive T cells and inflammatory cytokines in autoimmune myositis. The 6th Annual Symposium at Rheumatism Research Institute, Seoul National University Seoul June 2, 2010
- 11) Naoko Okiyama, Takehiko Sugihara, Hiroo Yokozeki, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Identification of CD8 T cell epitopes in skeletal muscle C-protein that induces experimental myositis of mice., *Keystone Symposia*, Breckenridge, Colorado, February 27-March 4, 2010
- 12) Naoko Okiyama, Takehiko Sugihara, Hiroo Yokozeki, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. a Effector T cells and Local Innate Immunity Need to Act in Concert for Development of Autoimmune Myositis 70th Annual Meeting of Society for Investigative Dermatology, Atlanta, May 5-8, 2010.
- 13) Naoko Okiyama, Takehiko Sugihara, Hiroo Yokozeki, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Identification of CD8 T cell epitopes in skeletal muscle C-protein that induces experimental myositis of mice. International Congress of Immunology Osaka, August 22-27, 2010
- 14) Ayaka Maeda, Shinya Hirata, Naoko Okiyama, Takahiko Sugihara, Eri Yoshimoto, Nobuyuki Miyasaka and Hitoshi Kohsaka Inflammatory chemokines expressed by differentiating myofibroblasts and the muscles affected by mouse model of polymyositis. International Congress of Immunology Osaka, August 22-27, 2010
- 15) Takahiko Sugihara, Naoko Okiyama, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka TNF α and IL-1 blockade for treatment of a murine model of polymyositis International Congress of Immunology Osaka, August 22-27, 2010
- 16) Takahiko Sugihara, Naoko Okiyama, Naoto Watanabe, Nobuyuki Miyasaka and Hitoshi Kohsaka. Blockade of TNF α or IL-1 ameliorates ongoing C-protein induced myositis of mice. American College of Rheumatology 74th National Meeting, Atlanta, Georgia, November 6-11, 2010
- 17) Naoko Okiyama, Takehiko Sugihara, Takahiro Satoh, Hiroo Yokozeki, Nobuyuki Miyasaka, Hitoshi Kohsaka. Identification of CD8 T cell epitopes in skeletal muscle C-protein that

induces experimental myositis of mice.35th Annual Meeting of Japanese Society of Investigative Dermatology. Wakayama, December 3-5, 2010.

- 18) 杉原 毅彦、沖山 奈緒子、宮坂 信之、上阪 等 多発性筋炎モデルマウスを用いた新治療法の開発第54回 日本リウマチ学会総会・学術集会 神戸 2010年4月22-25日
- 19) 上阪 等 多発性筋炎・皮膚筋炎研究 ―静から動へ― 順天堂大学膠原病内科講演会 東京 平成22年6月30日
- 20) 上阪 等 筋炎における自己反応性T細胞と炎症性サイトカイン 第6回自己免疫疾患研究会 東京 平成22年7月3日
- 21) 上阪 等 多発性筋炎と皮膚筋炎―膠原病内科医の診ため―2010 北海道末梢神経・筋研究会 札幌 平成22年7月31日
- 22) 上阪 等 膠原病内科医から見た炎症性筋疾患の基礎と臨床 第17回熊本神経カンファレンス学術講演会 平成22年12月1日 熊本

H.知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

核内受容体を標的とした新規自己免疫疾患制御法の探索に関する研究

研究分担者 山村 隆 (独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 免疫研究部 部長
研究協力者 大木 伸司 (独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 免疫研究部 室長

研究要旨

核内受容体は、リガンド依存的あるいは非依存的に標的遺伝子の発現を制御する転写因子であり、免疫系を含むさまざまな生体応答に関与することが知られている。本研究では、レチノイン酸受容体(RAR)とオープンファン受容体であるNR4A2の2種の核内受容体分子に着目し、多発性硬化症(Multiple Sclerosis: MS)に代表される自己免疫疾患の病態制御法の確立を目指した。マウス実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)などの動物モデルを用いて、NR4A2分子がTh17細胞などの病原性T細胞の炎症性サイトカイン産生に深く関わる因子であることを示し、NR4A2の機能を抑制することでEAE病態が制御可能であることを明らかにした。さらに合成レチノイド Am80 の経口投与により EAE 病態が抑制可能であることを明らかにし、抑制効果の本態が、Th17 細胞の分化抑制による炎症性サイトカイン産生の減少と、制御性 T 細胞の分化誘導による自己免疫応答の抑制によることを示した。一連の研究結果から、RAR と NR4A2 という2種の核内受容体分子が、MS をはじめとする種々の自己免疫疾患の病態予測や新規治療法確立に対して、きわめて有力な標的分子の候補であることが明らかとなった。

A.研究目的

多発性硬化症(Multiple Sclerosis: MS)などの自己免疫疾患では、自己抗原反応性 T 細胞が病原性に深く関わると考えられている。MS 患者由来末梢血 T 細胞を用いた網羅的遺伝子発現解析の結果、患者末梢血 T 細胞ではオープンファン核内受容体 NR4A2 の発現が選択的に亢進していることが明らかとなった。また、核内受容体 RAR のリガンドである ATRA などのレチノイドが、Th17 細胞の機能を制御する可能性が示されている。そこで、これら2種類の核内受容体分子を対象として、Th17 細胞に代表される病原性 T 細胞による病態形成機構との関係を明らかにすべく、EAE などのマウス病態モデルを用いて研究を進めた。

B.研究方法

C57BL/6J(B6)マウス脾臓 T 細胞から、IL-6 と TGF- β の存在下で Th17 細胞分化を誘導した。ATRA あるいは合成レチノイド Am80 共存下での IL-17 産生と ROR γ t の発現を定量し、Th17 細胞分化に対するレチノイドの効果を検証した。B6 マウスに MOG₃₅₋₅₅ ペプチドあるいは hIRBP1-20 ペプチドを含む CFA エマルジョンと百日咳毒素(PT)を投与することで、EAE あるいは実験的自己免疫性ブドウ膜炎(EAU)を誘導した。0.5% CMC に懸濁したレチノイド

(3mg/kg)を経口投与して、病態抑制効果を比較した。さらに、EAE マウスあるいは EAU マウスの脳・脊髄、末梢血、リンパ節、脾臓からリンパ球を分離した。脳・脊髄と末梢血の単核球から、Cytokine Secretion Assay Kit を用いて、IL-17 産生細胞および IFN- γ 産生細胞を分離した。Nucleofector を用いてマウス脾臓由来ナイーブ T 細胞に、NR4A2 特異的 siRNA を導入し、IL-6+TGF- β 存在下で培養した後のサイトカイン産生と転写因子の発現に対する効果を検証した。EAE マウスに、市販のコラーゲンマトリックスと混合して安定化させた siRNA を単回静脈投与し、対照マウスと併せて病態を比較解析した。EAE 発症マウスの脳・脊髄から、分離した単核球から調製した T 細胞を用いて、IL-17 および IFN- γ の産生を、ELISA 法、細胞内サイトカイン染色法、定量 PCR 法などを組み合わせて定量解析した。

(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

Am80 は、ATRA より強い Th17 分化抑制能と制御性 T 細胞誘導をもつことが明らかとなった。EAE マウスに対する Am80 の経口投与は、予防的プロトコール

ルおよび治療的プロトコールの双方で、病態を改善した。CNS 浸潤 T 細胞の IL-17 産生と ROR γ t 発現は、Am80 投与で有意に減少したが、Foxp3 の発現は増加しなかった。CNS 浸潤細胞の IL-17 産生と ROR γ t 発現の抑制は長期持続したが、Am80 の治療効果が EAE 後期で減弱した。Am80 投与群では、CNS 浸潤細胞に含まれる ROR γ t/Foxp3 両陽性のユニークな細胞集団が産生する IL-10 が有意に減少しており、Am80 の効果の消失に関わる可能性が考えられた。一方、EAU マウスでは、CD4+T 細胞と CD11b+細胞を含む CD45+細胞の眼球への浸潤が、観察期間を通じてほぼ消失し、総浸潤細胞数は対照群の 10%以下に抑制された。Am80 は、眼球浸潤 CD4+T 細胞の ROR γ t 発現を抑制し、Foxp3 発現の著明な増強を誘導した。

EAE マウスおよび EAU マウスでは、標的臓器に浸潤した T 細胞の NR4A2 発現亢進が発症前期にピークを迎え、その後減弱したのに対し、末梢血 T 細胞の NR4A2 発現亢進はより遅れてピークを迎えた。EAE マウスの CNS 浸潤細胞中には、IL-17 産生細胞、IFN- γ 産生細胞とともに、IL-17/IFN- γ 両産生細胞が検出された。このうち、選択的な NR4A2 の高発現は IL-17 産生細胞と IL-17/IFN- γ 両産生細胞に認められ、標的臓器浸潤 T 細胞の IL-17 産生と NR4A2 発現が強く関連した。Th17 細胞の *in vitro* 分化時に NR4A2 特異的 siRNA を導入すると、IL-17 産生がほぼ完全に抑制された。この時、ROR γ t 発現は若干の遅延傾向を認めたが、最終的に発現レベルには影響がなかった。また Th1 細胞の IFN- γ 産生は、siRNA 処理により全く変化しなかった。さらに、Th17 細胞増殖に関与する IL-21 遺伝子と、Th17 細胞の最終分化と形質の安定化に関わるとされる IL-23 受容体遺伝子の発現は、NR4A2 特異的 siRNA 処理によりいずれもほぼ完全に消失した。さらに、この IL-23 受容体の発現抑制と IL-17 産生抑制は、培養系 IL-21 を添加することにより濃度依存的に回復傾向を示した。MOG ペプチド免疫時に siRNA を単回静脈投与したマウスでは、EAE の発症が顕著に抑制され、この効果は約 3 週間持続した。MOG 特異的 IL-17 産生は、siRNA 投与により抑制された一方で、IFN- γ 産生は変化しなかった。さらに EAE マウスの脳・脊髄浸潤 T 細胞の IL-17 産生も、siRNA 投与により顕著に抑制された。さらに NR4A2 特異的 siRNA は、発症直後の単回静脈投与でも有意な病態抑制効果を示すことが明らかとなった。

D. 考察

種々の自己免疫疾患モデルあるいはヒト自己免疫

疾患において、Th17 細胞が病原性 T 細胞の主要な細胞集団であることが明らかにされている。したがって Th17 細胞機能を選択的に抑制することにより、病態制御が可能となり、新規治療法開発への道が開けると考えられる。

ATRA などのレチノイドが、Th17 細胞の機能を制御する可能性が示されたが、薬剤としての ATRA の体内動態は不安定である一方で、広汎な副作用の可能性を有するなど問題も多い。そこで ATRA の代わりに合成レチノイドを用いることで、自己免疫治療標的としての RAR の可能性を検証した。RAR 本邦において APL 治療薬として臨床応用されている合成レチノイド Am80 は、顕著な Th17 細胞分化抑制効果を示し、EAE および EAU の病態を顕著に抑制した。Am80 は、標的臓器浸潤細胞の ROR γ t 発現と IL-17 産生を著しく抑制し、Foxp3 発現の亢進を誘導した。合成レチノイド Am80 は、複数の自己免疫疾患モデルに共通して Th17 細胞機能抑制による病態改善効果を示すことが明らかとなった。

MS 患者由来末梢血 T 細胞を用いた網羅的遺伝子発現解析の結果、患者末梢血 T 細胞で選択的に発現亢進する分子として、オープン核内受容体 NR4A2 を見出し、病態との関連をさらに解析した。EAE マウスおよび EAU マウスでは、NR4A2 発現の経時変化が標的臓器浸潤 T 細胞と末梢血 T 細胞で異なることが明らかとなった。とくに末梢血 T 細胞の NR4A2 発現が病態の発症と良く関連したことから、MS を含む種々の自己免疫疾患における Th17 細胞依存性の自己免疫応答のモニタリングに、NR4A2 が有効なバイオマーカーとして応用できる可能性が示された。さらにこの結果は、病原性 T 細胞の生体内動態を探る上でも、きわめて示唆に富む結果と思われた。EAE/EAU マウス由来 T 細胞の NR4A2 発現上昇は IL-17 産生細胞のみで認められたこと、NR4A2 特異的 siRNA 処理により *in vitro* 分化 Th17 細胞の IL-21 産生、IL-23 受容体発現と IL-17 産生がほぼ完全に消失したことから、NR4A2 がエフェクター T 細胞の IL-17 産生に至る T 細胞分化過程に重要な役割を果重要な免疫応答制御因子であることが明らかとなった。NR4A2 特異的 siRNA の単回静脈投与により EAE 病態が、MOG 抗原特異的 IL-17 産生、脳・脊髄への Th17 細胞の集積とともに顕著に抑制された。MS をはじめとする自己免疫疾患の治療標的として、NR4A2 が極めて有力な候補分子である可能性を示唆している。

E. 結論

MS をはじめとする種々の自己免疫疾患の新規治

療標的の同定を目的として、病原性 Th17 細胞の機能制御効果が期待される2種類の核内受容体分子 (RAR/NR4A2) の病態制御能を、EAE/EAU などのマウス自己免疫疾患モデルを用いて詳細に解析した結果、これらの核内受容体分子が、自己免疫疾患診断や治療にいたる全く新しい方法を提供しうる有力な標的候補であることが明らかとなった。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

1) Yoshimitsu Doi, Shinji Oki, Tomoko Ozawa, Hirohiko Hohjoh, Sachiko Miyake, and Takashi Yamamura: 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)

2) Christian Klemann, Benjamin JE Raveney, Shinji Oki, Takashi Yamamura: Retinoid signals and Th17-mediated pathology.
日本臨床免疫学会誌 32 (1), 20-28 (2009)

3) Christian Klemann, Benjamin JE Raveney, Anna K Klemann, Tomoko Ozawa, Stephan von Hörsten, Koichi Shudo, Shinji Oki, Takashi Yamamura: Synthetic retinoid AM80 inhibits Th17 cells and ameliorates EAE
Am. J. Pathol. 174, 2234-45 (2009)

4) Shinji Oki, Takashi Yamamura: 多発性硬化症の病態解析から治療標的の同定へ
日本臨床免疫学会誌 32 (4), 214-222 (2009)

5) 大木 伸司: 多発性硬化症における病原性 T 細胞のサイトカイン産生制御機構、生化学(日本生化学会編)、第 82 巻 745-750 (2010)

6) 大木 伸司: 多発性硬化症の自己免疫病態と新規治療戦略、ファルマシア (日本薬学会編) 第 46 巻 745-749, (2010)

2. 学会発表

[国際学会]

Shinji Oki, Yoshimitsu Doi, Tomoko Ozawa, Sachiko Miyake, Takashi Yamamura: Functional involvement

of NR4A2 in the pathogenesis of inflammatory demyelinating disease.

Keystone Symposia 2008: Nuclear Receptors: Orphan Brothers (Z1), Whistler CA, Apr.1st, 2008

Christian Klemann, Shinji Oki, Anna K Klemann, Tomoko Ozawa, Yoshimitsu Doi, Koichi Shudo, Takashi Yamamura: Synthetic Retinoid Am80 ameliorates EAE by attenuating Th17-mediated inflammation

The 9th International Congress of Neuroimmunology, Fort Worth, Oct. 26th, 2008

Benjamin JE Raveney, Shinji Oki, Tomoko Ozawa, Takashi Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells. 9th Annual Conference of FOCIS, San Francisco, Jun. 11th-14th, 2009

Shinji Oki: Nuclear receptors as therapeutic targets for multiple sclerosis. 2nd Conference of Germany and Japan Neuroimmunology Eibsee Germany, Jul. 7th-11th, 2009

Benjamin JE Raveney, Shinji Oki, Tomoko Ozawa, Takashi Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells. 2nd European Congress of Immunology, Berlin Germany, Sep. 13th-16th, 2009

Benjamin JE Raveney, Shinji Oki, Takashi Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells.

97h Annual Meeting of the American Association of Immunologist, Baltimore, May. 7th-11th, 2010

Benjamin JE Raveney, Shinji Oki, Takashi Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells.

14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug. 22nd-27th, 2010

Shinji Oki, Benjamin JE Raveney, Takashi Yamamura: Oral administration of the synthetic retinoid Am80 ameliorates

Th17-mediated autoimmunity of the eye and central nervous system
14th International Congress of Immunology, Kobe, Aug. 22nd-27th, 2010

[国内学会]

Shinji Oki, Yoshimitsu Doi, Benjamin JE Raveney, Tomoko Ozawa, Hirohiko Hohjoh, Sachiko Miyake, Takashi Yamamura: Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines (シンポジウム S8 招待講演)
第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都) 2008 年 12 月 1 日

Christian Klemann, Shinji Oki, Tomoko Ozawa, Yoshimitsu Doi, & Takashi Yamamura: Alteration of Th17 differentiation by retinoic acid signals ameliorate EAE development
第 20 回日本神経免疫学会学術集会(新潟) 2008 年 4 月 17 日

Christian Klemann, Shinji Oki, Anna K Klemann, Ben JE Raveney, Tomoko Ozawa, Koichi Shudo, Takashi Yamamura: Synthetic retinoid Am80 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by attenuating Th17-mediated inflammation
第 36 回日本臨床免疫学会総会(東京) 2008 年 10 月 17 日

大木伸司、Christian Klemann、Benjamin JE Raveney、Anna K Klemann、小澤智子、首藤紘一、山村隆: 合成レチノイド Am80 の Th17 細胞分化制御を介した自己免疫応答抑制効果について
第 19 回日本レチノイド研究会(東京) 2008 年 11 月 21 日

Christian Klemann, Shinji Oki, Benjamin J.E. Raveney, Takashi Yamamura: Synthetic Retinoid Am80 ameliorates EAE by attenuating Th17-mediated inflammation
第 38 回日本免疫学会総会・学術集会(京都) 2008 年 12 月 1 日

大木伸司、レイバニー・ベン、クレマン・クリスチャン、首藤紘一、山村隆: 実験的自己免疫性ブドウ膜炎 (EAU) に対する合成レチノイド Am80 の病態抑

制効果 第 21 回日本神経免疫学会学術集会(大阪) 2009 年 3 月 13 日

Shinji Oki, Benjamin JE Raveney, Takashi Yamamura: AM80, a synthetic retinoid, ameliorates Th17-mediated ocular autoimmunity and promotes the infiltration of Foxp3⁺ T cells into the eye 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会(大阪) 2009 年 12 月 2 日

Benjamin JE Raveney, Shinji Oki, Takashi Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会(大阪) 2009 年 12 月 2 日

大木 伸司、ベンジャミン・レイバニー、吉村 元、山村 隆: オーファン核内受容体 NR4A2 は IL-17 産生性 T 細胞と自己免疫応答に強く関連する
第 22 回日本神経免疫学会学術集会、Mar. 17th-19th, 2010
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

全身性エリテマトーデス(SLE)におけるリンパ球の機能異常に関する研究

研究分担者 桑名 正隆 慶應義塾大学内科 准教授
研究協力者 花岡 洋成 慶應義塾大学内科 助教
研究協力者 西本 哲也 慶應義塾大学内科 大学院生

研究要旨

SLE は様々な免疫担当細胞に機能の異常がみられる自己免疫疾患である。そこで本研究では、SLE の疾患標識抗体である抗二本鎖 DNA(dsDNA)抗体を産生する B 細胞と自己免疫疾患の発症に重要な役割を果たす CD4⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞に注目し、病態との関連を検討した。

末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞は SLE 患者で特異的に検出されたが、感度は 22%と低かった。一方、末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞の存在は持続性蛋白尿、男性、リンパ球減少、高疾患活動性(SLEDAI や SLAM 高値)と相関した。抗 dsDNA 抗体陽性にもかかわらず疾患活動性の低い症例(SLEDAI 5 以下)を、前向きに追跡した結果、末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞陽性例が高率に再燃した(p<0.001)。また、CD4⁺Foxp3⁺細胞の比率は SLE 患者で健常人に比べて有意に増加していた。さらに、CD4⁺Foxp3⁺細胞の比率は抗二本鎖 DNA 抗体価、SLEDAI と正の相関を、血清総補体価と負の相関を示した。同一患者の検体を用いた経時的な解析では、疾患活動性低下に伴って CD4⁺Foxp3⁺細胞の比率が減少した。SLE 患者の CD4⁺Foxp3⁺細胞上では健常人と比較して CCR6 の発現低下、CXCR4 の発現上昇がみられた。

以上より、SLE の活動性に伴って抗 dsDNA 抗体産生細胞が末梢血中へ動員され、SLE の病態形成に関与する可能性が示された。また、末梢血中にケモカイン受容体発現プロファイルが変化した CD4⁺Foxp3⁺細胞も増加し、病態に関わる可能性が示された。

A.研究目的

抗二本鎖 DNA(dsDNA)抗体は SLE の疾患標識抗体であり、その抗体価は疾患活動性と関連するとされるが、必ずしもその相関は強くない。一方、B 細胞に代表される抗体産生細胞は抗原特異的 T 細胞による刺激後、骨髄や脾臓から末梢血へ動員されることが知られている。したがって、SLE 患者の一部、特に抗 dsDNA 抗体陽性例では末梢血中に抗 dsDNA 抗体産生細胞が存在する可能性が高い。そこで、SLE 患者末梢血中の抗 dsDNA 抗体産生細胞を直接検出することにより、疾患活動性の評価が可能かどうかを検討することを目的とした。

また、Foxp3 は制御性 T 細胞(Treg)の分化、機能に重要な役割を果たす転写因子であり、Treg のマーカーとして広く用いられている。多くの自己免疫疾患において、CD4⁺Foxp3⁺Treg の異常とその病態との関連が報告されているが、SLE 患者における Treg の増減について一定の結論が得られていない。そこで、本研究では SLE 患者における CD4⁺Foxp3⁺細胞とその病態における役割を検討した。

B.研究方法

a) 対象

アメリカリウマチ学会の分類基準を満たす SLE 患者 130 例、対照疾患患者 40 例(関節リウマチ 32 例、原発性 Sjögren 症候群 6 例、強皮症 2 例)、健常人 19 例を対象とした。末梢血単核球(PBMC)を比重遠心法により分離し以下の検討に用いた。

b) SLE 患者の臨床情報

SLE 患者の末梢血採取時点での臨床情報(抗 dsDNA 抗体価、白血球数、リンパ球数、ヘモグロビン、血小板数、ESR、ヘマトクリット、血清アルブミン、CRP、総補体価、血清クレアチニン、蛋白尿、SLEDAI、SLAM)を履歴的に調査した。一部の解析では、抗 dsDNA 抗体高値陽性で SLEDAI5 以下の 28 例を前向きに追跡し、疾患活動性に関して経時的に評価した。

c) 抗 dsDNA 抗体産生細胞の検出

IgG 抗 dsDNA 抗体産生細胞は ELISPOT 法を用いて定量した。S1 nuclease 処理後のスファージ

DNA を抗原として固相化した PVDF 膜 96 穴プレートの各ウェルに末梢血単核球を 2.5×10^5 個ずつ加えて 4 時間培養し、洗浄後アルカリフォスファターゼ標識抗ヒト IgG 抗体と基質を反応させた。各ウェルのスポット数を数え、PBMC 2.5×10^5 個あたりの末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞数として定量した。血清 IgG 抗 dsDNA 抗体価は市販の ELISA キット (MESACUP「dsDNA」: MBL) により測定した。SLE 患者では臨床症状を履歴的に調査した。

d) CD4⁺Foxp3⁺細胞の比率とケモカイン受容体発現の解析

Foxp3 の発現は細胞表面蛋白 (CD4、CXCR3、CCR4、CCR6、CXCR4) を蛍光標識後、抗 Foxp3 抗体 (clone 236A/E7; eBioscience) を用いた細胞内染色により調べた。CD4⁺細胞中における Foxp3⁺細胞の比率と CD4⁺Foxp3⁺細胞上のケモカイン受容体の発現強度と陽性細胞頻度はフローサイトメトリー (FACS Calibur: BD Biosciences) を用いて解析した。発現強度は mean fluorescence intensity (MFI) を用いて定量化した。

また、SLE 患者 3 例を対象として活動期と寛解期の経時的変化を検討した。

e) 統計学的解析

2 群間の比較は Fisher の 2-tailed test または Mann-Whitney U-test により行った。臨床情報との相関解析は Pearson's correlation coefficient を用いて解析した。前向き追跡結果は Kaplan-Meier 法により検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は学内の倫理委員会での承認後に行った。検体採取の際には、事前に文書によるインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

a) 抗 dsDNA 抗体産生細胞と診断、疾患活動性

末梢血中の抗 dsDNA 抗体産生細胞は SLE 患者 29 例 (22%) に検出された。一方、対照疾患、健常人では検出されず、SLE に対する特異度 100% と高かった。SLE 患者を抗 dsDNA 抗体産生 B 細胞の有無で層別化すると、その存在は男性、抗 dsDNA 抗体価高値、リンパ球数低値、持続性蛋白尿、SLEDAI・SLAM 高値、多い PSL 投与量と相関した (表 1)。陽性例の平均 SLEDAI は 5.3 ± 2.1 であり、臓器病変としては腎炎 15 例 (生検施行 7 例: ISN/RPS IV 型: 3 例、III 型: 2 例、V 型: 2 例)、血球減少症: 10 例、胸膜炎

2 例、ループス腸炎 1 例、血栓性血小板減少性紫斑病 1 例であった。

一方、IgG 抗 dsDNA 抗体高値陽性 43 例 (>100 IU/mL) を対象とすると、抗 dsDNA 抗体産生 B 細胞が検出された 25 例は、検出されない 18 症例に比べて SLEDAI、SLAM がいずれも有意に高かった ($p < 0.01$, $p < 0.01$)。したがって抗 dsDNA 抗体産生細胞の検出は抗 dsDNA 抗体高値例の中で疾患活動性が高い症例の抽出に有用であった。

また末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞陽性 3 例に対し、ステロイドを増量したところ、全例で疾患活動性の低下と平行して同細胞数が減少した。一方、抗 dsDNA 抗体価の減少は顕著ではなかった。

b) 抗 dsDNA 抗体産生細胞陽性例の予後

抗 dsDNA 抗体陽性 SLEDAI 5 以下の 28 例を、前向きに検討した結果、末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞陽性例 8 例中 4 例が 20 か月以内に SLEDAI 5 以上となり再燃した ($p < 0.001$) (図 1)。再燃した 4 症例ともに重篤な臓器合併症を併発した (心膜炎: 1 例、血小板減少症、ループス腎炎: 1 例、ループス腎炎: 1 例、血栓性血小板減少性紫斑病: 1 例)。

c) CD4⁺細胞中の Foxp3⁺細胞比率の比較と SLE 患者における臨床所見との関連

CD4⁺細胞中における Foxp3⁺細胞の比率は SLE 患者で健常人に比べて有意に増加していた (平均 ± 標準偏差: $15.4 \pm 7.3\%$ vs $8.9 \pm 2.3\%$, $P < 0.001$) (図 2)。同一患者の検体を用いた経時的な解析では、CD4⁺Foxp3⁺細胞の比率が治療による疾患活動性低下に伴って減少した。

次に、CD4⁺細胞中における Foxp3⁺細胞の比率は抗二本鎖 DNA 抗体価 ($r = 0.52$, $P = 0.001$)、SLEDAI ($r = 0.57$, $P < 0.001$) と正の相関を、血清総補体価 ($r = 0.52$, $P = 0.001$) と負の相関を示した (図 3)。なお、他の臨床情報との間に関連は認めなかった。

d) CD4⁺Foxp3⁺細胞におけるケモカイン受容体発現の解析

健常人と SLE 患者で CD4⁺Foxp3⁺細胞上のケモカイン受容体の発現を解析したところ、CXCR3、CCR4 では有意な変化は見られなかった。しかし、SLE 患者の CD4⁺Foxp3⁺細胞上では CCR6 の発現強度 (SLE 患者 vs 健常人: 1.0 ± 0.3 vs 1.1 ± 0.3 , $P = 0.02$)、陽性細胞頻度 (1.5 ± 1.9 vs 3.6 ± 3.4 , $P = 0.003$) がともに低下していた。また、CXCR4 の発現強度 (46.9 ± 24.6 vs 29.5 ± 16.2 , $P = 0.007$)、陽性細胞頻度 (86.0 ± 16.2 vs 63.3 ± 20.5 , $P < 0.001$) がと

もに上昇していた。一方、ケモカイン受容体の発現強度や陽性細胞頻度とSLE患者の臨床症状との間に関連はみられなかった。

D. 考察

SLE患者において活動期に末梢血抗dsDNA抗体産生B細胞・形質細胞が出現し、その検出は疾患活動性評価に有用であった。特に抗dsDNA抗体高値例の中で疾患活動性が高い症例の抽出に有用であった。

その理由の一つとして、結合親和性の低い抗dsDNA抗体は標的臓器で消費されず、血清中の抗dsDNA抗体価が必ずしも疾患活動性を反映しない可能性が考えられる。

したがって、血清抗体ではなく産生細胞を測定することにより明確に疾患活動性を反映する可能性があり、今後の臨床検査として診療への応用が期待される。また、再燃前に末梢血中に抗dsDNA抗体産生細胞が出現する現象が確認されたことから、病態形成に同細胞が関与している可能性が示唆される。

また、SLE患者においてCD4⁺T細胞中のFoxp3⁺細胞の比率は増加しており、疾患活動性と正の相関がみられた。この理由として、①Tregの免疫制御機能が低下し、それを代償するための過剰な増加、あるいは②CD4⁺Foxp3⁺細胞がTregとしての免疫制御活性を欠き、エフェクター細胞として病原性を発揮する可能性が考えられた。

SLE患者のCD4⁺Foxp3⁺細胞ではCCR6発現低下、CXCR4発現上昇を認め、CD4⁺Foxp3⁺細胞の増加だけでなく機能的な異常が存在する可能性が考えられた。ただし、疾患活動性との相関がみられなかったことから、ケモカイン受容体発現異常は疾患感受性に寄与することが推測された。

E. 結論

SLE患者末梢血中で抗dsDNA抗体産生細胞やCD4⁺Foxp3⁺細胞を測定することで、より正確な疾患活動性の評価が可能となる。また、活動期の末梢血中に増加するこれらの細胞群がSLE病態に密接に関与する可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

論文発表

1. Takahashi H, Amagai M, Nishikawa T, Fujii Y,

Kawakami Y, and Kuwana M. Novel system evaluating *in vivo* pathogenicity of desmoglein 3-reactive T-cell clones using murine pemphigus vulgaris. *J. Immunol.* 2008; 181(2): 1526-1535.

2. Asahi A, Nishimoto T, Okazaki Y, Suzuki H, Masaoka T, Kawakami Y, Ikeda Y, and Kuwana M. *Helicobacter pylori* eradication shifts monocytes' Fc γ receptor balance toward inhibitory Fc γ RIIB in immune thrombocytopenic purpura. *J. Clin. Invest.* 2008; 118(8): 2939-2949.
3. Takahashi H, Kuwana M, and Amagai M. A single helper T-cell clone is sufficient to commit polyclonal naïve B cells to produce pathogenic IgG in experimental pemphigus vulgaris. *J. Immunol.* 2009; 182(3): 1740-1745.
4. Kuwana M, Okazaki Y, and Ikeda Y. Splenic macrophages maintain the anti-platelet autoimmune response via uptake of opsonized platelets in patients with immune thrombocytopenic purpura. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7(2): 322-329.
5. Sato S, and Kuwana M. Clinically amyopathic dermatomyositis. *Curr. Opin Rheumatol.* 2010; 22(6): 639-643.

学会発表

1. 桑名正隆: 感染と自己免疫. 第52回日本リウマチ学会総会(札幌). 2008. 4.
2. Kuwana M: Platelet and autoantibodies. The 17th International Rheumatology Symposium (Sapporo). 2008. 4.
3. 桑名正隆: 抗リン脂質抗体の産生機序. 第19回日本リウマチ学会関東支部学術集会(高崎). 2008. 12.

4. 桑名正隆: 免疫性血小板減少性紫斑病
(Pathophysiology of immune thrombocytopenic purpura). 第 72 回日本血液学会学術集会 (横浜). 2010. 9.
5. 桑名正隆: 教育講演 ITP; ITP の病態と新たな治療標的. 第 52 回小児血液学会総会 (大阪). 2010. 12.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得

発明名称: 全身性エリテマトーデス(SLE)の診断・活動性評価キット

出願人: 学校法人 慶應義塾

発明者: 花岡洋成, 桑名正隆

出願番号: 特許出願 2008-237479

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1:末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞陽性例と陰性例の臨床特徴の比較

臨床的特徴	ELISPOT 陽性 (n=29)	ELISPOT 陰性 (n=101)	*P
性差 (% 女性)	58.3	86.2	< 0.01
年齢(歳)	44.2 ± 10.7	45.1 ± 15.8	0.64
抗dsDNA 抗体価(IU/ml)	264.5 ± 146.7	70.9 ± 93.9	< 0.01
白血球数 (10 ³ /ul)	5.0 ± 2.4	5.6 ± 2.1	0.45
リンパ球数 (10 ³ /ul)	0.6 ± 0.4	1.1 ± 0.6	< 0.01
ヘモグロビン値 (g/dl)	10.9 ± 2.0	11.7 ± 1.9	0.36
血小板数 (10 ⁴ /ul)	15.8 ± 7.8	20.0 ± 8.6	0.26
血沈 (mm/hr)	51.0 ± 30.3	41.4 ± 32.9	0.82
ヘマトクリット (%)	33.5 ± 5.7	36.1 ± 5.6	0.38
血清アルブミン値 (g/dl)	3.3 ± 0.6	3.8 ± 0.6	0.06
CH50 (U/ml)	28.2 ± 13.8	34.1 ± 12.8	0.44
血清クレアチニン値 (mg/dl)	0.9 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.27
持続性蛋白尿 (%)	51.7	20.5	< 0.01
SLEDAI ^a	5.3 ± 2.1	2.4 ± 2.1	< 0.01
SLAM ^b	5.7 ± 2.5	3.3 ± 2.5	< 0.01
PSL投与量(mg/日)	12.7 ± 12.9	8.1 ± 9.4	< 0.01

a: SLE disease activity index

b: Systemic lupus activity measure

*Mann Whitney U test

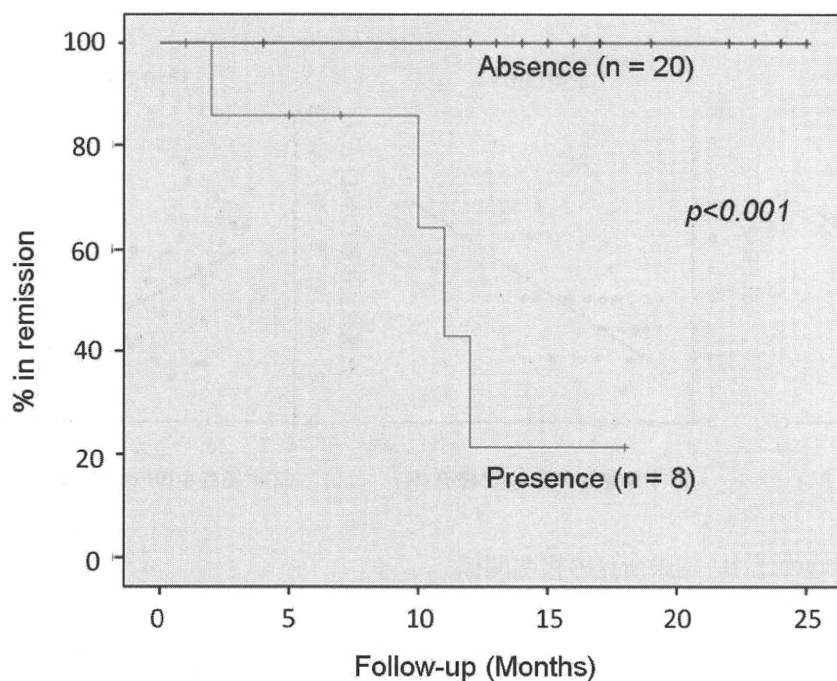


図 1. 末梢血抗 dsDNA 抗体産生細胞陽性例の転帰

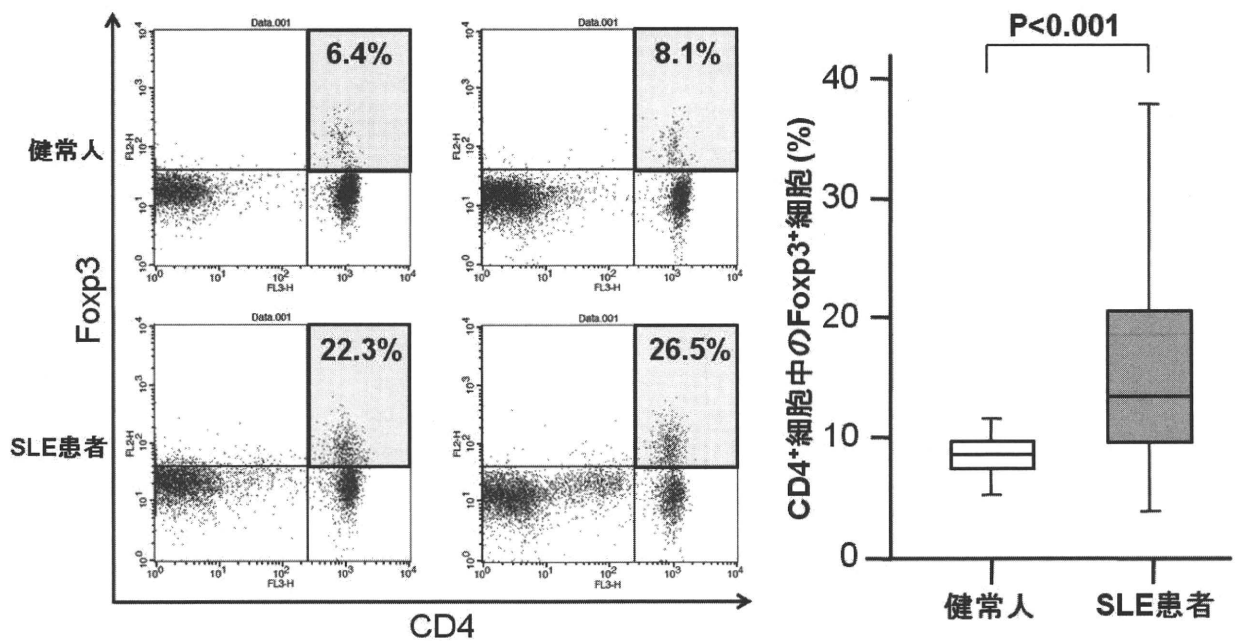


図 2. 健康人と SLE 患者における CD4⁺細胞中の Foxp3⁺細胞の比率

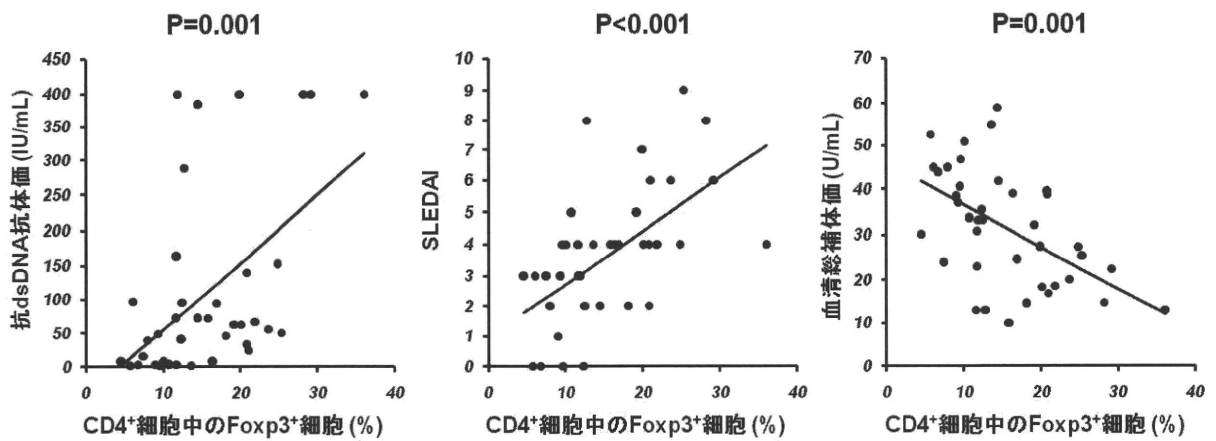


図 3. CD4⁺細胞中の Foxp3⁺細胞の比率と臨床所見の相関関係

制御性T細胞を用いた自己免疫の抑制に関する研究

研究分担者 坂口 志文 京都大学再生医科学研究所生体機能調節学分野 教授
研究協力者 山口 智之 京都大学再生医科学研究所生体機能調節学分野 助教

研究要旨

本研究は制御性 T 細胞の免疫抑制機能の分子メカニズムに着目して、病的状態における制御性 T 細胞の機能評価方法の確立および制御性 T 細胞の機能制御による自己免疫反応の制御法開発を目指した。転写因子 Foxp3 が Cb β -Runx 転写因子複合体をはじめとする複数の転写因子群と直接的に結合していることを示した。これらの転写因子により発現が調節されている分子やこれらの転写因子自体を標的にすることにより、免疫応答を操作することが可能である。

A. 研究目的

FoxP3⁺CD4⁺制御性 T 細胞は、過剰な免疫応答を抑制し、正常な免疫系を維持するため必須の役割を担っている。制御性 T 細胞の欠損・機能不全は自己免疫病の原因となるのみならず、制御性 T 細胞は様々な免疫疾患の病態に関与している可能性が高い。制御性 T 細胞の免疫抑制機能の分子メカニズム明らかにすることで、病的状態における制御性 T 細胞の機能評価方法の確立および制御性 T 細胞の機能制御による自己免疫反応の制御法開発につなげる。

B. 研究方法

制御性 T 細胞の機能に最も重要な転写因子は Foxp3 である。Foxp3 を中心とした転写因子複合体の構成要素を、免疫沈降法などを用いて明らかにした。さらに、複合体を形成する分子およびこれら転写因子により発現が調節されている分子の遺伝子座を flox 配列で挟んだノックインマウスを作成し、FoxP3 発現細胞特異的に Cre recombinase を発現するマウス等と交配することで、制御性 T 細胞特異的に遺伝子を欠損するマウスを作成した。これらの遺伝子改変マウスを用いることで各分子の制御性 T 細胞での重要性、役割を明らかにすると同時に、これらの分子を標的にすることで免疫応答を操作できるか検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験を用いた解析について、既に京都大学再生医科学研究所の審査承認を得ており、動物実験については不必要なものを排除し、可能なものは細胞株を利用した代替実験を積極的に取り込んでいる

C. 研究結果

制御性 T 細胞のマスター制御遺伝子 Foxp3 は多くの転写因子群と直接的に結合していた。特に、Runx1 および CBF β からなる転写因子複合体と直接的に結合し、多数の遺伝子発現を調節していることが示された。Foxp3-Runx 複合体が Foxp3 自体の発現維持と Th2 サイトカインである IL-4 の発現抑制に重要な役割を担っていた。その結果、CBF β 欠損制御性 T 細胞は十分に機能することができず、自己免疫性胃炎や高 IgE 血症を呈する。また、制御性 T 細胞内で、Foxp3 を中心とする転写因子群により発現が誘導される CTLA-4 を制御性 T 細胞特異的に欠損したマウスの制御性 T 細胞は免疫応答を抑制できず、過剰なリンパ球増殖、致死的自己免疫性心筋炎を発症した。

D. 考察

Foxp3 がどのような転写因子複合体を形成し、どのような遺伝子群の発現を調節し、いかにして免疫応答を抑制しているかが分子レベルで明らかになった。制御性 T 細胞に発現する Runx 関連遺伝子や CTLA-4 は、制御性 T 細胞が免疫抑制機能を発揮する上で必須の役割を担っていることが示され、これらの分子の発現を調節することで、個体レベルの免疫応答を操作することが可能であった。

E. 結論

FoxP3, Runx-CBF β , CTLA-4 は制御性 T 細胞による免疫抑制機能に必須の分子である。これら自体及び関連した遺伝子は、病的状態における制御性 T 細胞の機能評価方法および制御性 T 細胞の機能調節医薬の有力な候補となる。

F.健康危険情報

該当なし。

G.研究発表

1. 論文発表

・Sakaguchi, S. Regulatory T cells in the past and for the future. *Eur. J. Immunol.* 38:901-937, 2008.

・Fehervari, Z. and Sakaguchi, S. T lymphocytes: Regulatory. In *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. Wiley InterScience, 2008. Available at www.els.net.

・Miyara, M., Sakaguchi, S. Immune Dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked Syndrome. In *Encyclopedia of Molecular Medicine*, Wiley Interscience, 2008. Available at www.els.net.

・Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., and Ono, M. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*. 133: 775-787, 2008.

・Onishi, Y., Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S. Foxp3⁺ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 29:10113-10118, 2008.

・Wakasa-Morimoto, C., Toyosaki-Maeda, T., Matsutani, T., Yoshida, R., Nakamura-Kikuoka, S., Maeda-Tanimura, M., Yoshitomi, H., Hirota, K., Hashimoto, H., Masaki, H., Fujii, F., Sakata, T., Tsuruta, Y., Suzuki, R., Sakaguchi, N., and Sakaguchi, S. Arthritis and pneumonitis produced by the same T-cell clones from mice with spontaneous autoimmune arthritis. *Int. Immunol.* 20:1331-1342, 2008.

・Sharma, S., Dominguez, A. L., Manrique, S. Z., Cavallo, F., Sakaguchi, S., and Lustgarten, J. Systemic targeting of CpG-ODN to the tumor microenvironment with anti-neu-CpG hybrid molecule and T regulatory cell depletion induces memory responses in BALB-neuT tolerant mice. *Cancer Res.* 68:7530-7540, 2008.

・Li, Y., Zhao, X., Cheng, D., Haga, H., Tsuruyama, T., Wood, K., Sakaguchi, S., Tanaka, K., Uemoto, S., and Koshiba, T. The presence of FOXP3 expressing T cells within grafts of tolerance human liver transplant recipients. *Transplantation.* 86:1837-1843, 2008.

・Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., and Sakaguchi, S. CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function. *Science.* 322:271-275, 2008.

・Satoda, N., Shoji, T., Wu, Y., Fujinaga, T., Chen, F., Aoyama, A., Zhang, J. T., Takahashi, A., Okamoto, T., Matsumoto, I., Sakai, H., Li, Y., Zhao, X., Manabe, T., Kobayashi, E., Sakaguchi, S., Wada, H., Ohe, H., Uemoto, S., Tottori, J., Bando, T., Date, H., and Koshiba, T. Value of FOXP3 Expression in Peripheral Blood as Rejection Marker After Miniature Swine Lung Transplantation. *J. Heart Lung Transplant.* 27:1293-1301, 2008.

・Sakihama T, Sato T, Iwanari H, Kitamura T, Sakaguchi S, Kodama T, Hamakubo T. A simple detection method for low-affinity membrane protein interactions by baculoviral display. *PLoS ONE.* 2008;3(12):e4024.

・Miyara, M., and Sakaguchi, S. Regulatory T Cells and the Control of Auto-Immunity: From day 3 Thymectomy to FoxP3⁺ Regulatory T Cells. In *Regulatory T cells and Clinical Application*, Ed. S. Jiang, Springer, p3-16, 2008.

・Wing, K., and Sakaguchi, S. Regulatory T cells. In *Clinical Immunology*, eds. R. R. Rich, T. A. Fleisher, W. T. Shearer, H. W. Schroeder, Jr., A. J. Frew, and C. M. Weyand, Mosby. 2008; P249-258.

・Yoshitomi, M., Koshiba, T., Haga, H., Li, Y., Zhao, X., Cheng, D., Miyagawa, A., Sakashita, H., Tsuruyama T., Ueda, M., Wood, K., Sakaguchi S., Manabe, T., Tanaka, K., and Uemoto, S. Requirement of protocol biopsy before and after complete cessation of immunosuppression following liver transplantation. *Transplantation.* 87:606-614, 2009.

・Nagahama, K., Fehervari, Z., Oida, T., Ogawa, O., and Sakaguchi, S. Differential control of alloantigen-specific regulatory T cells and effector T cells by anti-CD4 and other agents in establishing transplantation tolerance. *Int. Immunol.* 21:379-391, 2009.

・Miyara, M., Shima, T., Kitoh, A., Yoshioka, Y., Niwa,

- A., Taflin, C., Heike, T., Valeyre, D., Mathian, A., Nakahata, T., Yamaguchi T., Nomura, T., Wing, K., Ono, M., Amoura, Z., Gorochoy, G., and Sakaguchi, S. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4(+) T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity*. 30:899-911, 2009.
- Ohkura, N., and Sakaguchi, S. A novel modifier of regulatory T cells *Nat Immunol*. 10: 685-686, 2009.
- Duan, F., Lin, Y., Liu, C., Engelhorn, M. E., Cohen, A. D., Curran, M., Sakaguchi, S., Merghoub, T., Terzulli, S., Wolchok, J. D., and Houghton, A. N. Immune rejection of mouse tumors expressing mutated self. *Cancer Res*. 69:3545-3553, 2009.
- Liu, Z., Tian, S., Falo, L. D. Jr, Sakaguchi, S., and You, Z. Therapeutic Immunity by Adoptive Tumor-primed CD4(+) T-cell Transfer in Combination With In Vivo GITR Ligation. *Mol Ther*. 17:1274-81, 2009.
- Miyara, M., Wing, K., and Sakaguchi, S. Therapeutic approaches to allergy and autoimmunity based on FoxP3+ regulatory T-cell activation and expansion. *J Allergy Clin Immunol*. 123:749-55, 2009.
- Piao, J., Kamimura, Y., Iwai, H., Cao, Y., Kikuchi, K., Hashiguchi, M., Masunaga, T., Jiang, H., Tamura, K., Sakaguchi, S., and Azuma, M. Enhancement of T-cell-mediated anti-tumour immunity via the ectopically expressed glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor-related receptor ligand (GITRL) on tumours. *Immunology*. 127:489-99, 2009.
- Ito, Y., Usui, T., Kobayashi, S., Iguchi-Hashimoto, M., Ito, H., Yoshitomi, H., Nakamura, T., Shimizu, M., Kawabata, D., Yukawa, N., Hashimoto, M., Sakaguchi, N., Sakaguchi, S., Yoshifuji, H., Nojima, T., Ohmura, K., Fujii, T., and Mimori, T. Gamma/delta T cells are the predominant source of interleukin-17 in affected joints in collagen-induced arthritis, but not in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 60:2294-2303, 2009.
- Okamura, T., Fujio, K., Shibuya, M., Sumitomo, S., Shoda, H., Sakaguchi, S., and 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.
- Sakaguchi, S., Wing, K., and Yamaguchi, T. Dynamics of peripheral tolerance and immune regulation mediated by Treg. *Eur. J. Immunol*. 39:2331-6, 2009.
- Kitoh, A., Ono, M., Naoe, Y., Ohkura, N., Yamaguchi, T., Yaguchi, H., Kitabayashi, I., Tsukada, T., Nomura, T., Miyachi, Y., Taniuchi, I., and Sakaguchi, S. Indispensable role of Runx1/Cbfb complexes for *in vivo* suppressive function of FoxP3+ regulatory T cells. *Immunity*. 31:609-620, 2009.
- Sakaguchi, S., Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., and Yamaguchi, T. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol*. 21:1105-11, 2009.
- Onodera, T., Jang, M. H., Guo, Z., Yamasaki, M., Hirata, T., Bai, Z., Tsuji, N. M., Nagakubo, D., Yoshie, O., Sakaguchi, S., Takikawa, O., and Miyasaka, M. Constitutive expression of IDO by dendritic cells of mesenteric lymph nodes: functional involvement of the CTLA-4/B7 and CCL22/CCR4 interactions. *J. Immunol*. 183:5608-5614, 2009.
- Wing, K., and Sakaguchi, S. Regulatory T cells exert checks and balances on self-tolerance and autoimmunity. *Nat. Immunol*. 11:7-13, 2010.
- Caetano-Lopes, J., Nery, A. M., Canhao, H., Duarte, J., Cascao, R., Rodrigues, A., Perpetuo, I. P., Abdulghani, S., Amaral, P. M., Sakaguchi, S., Kontinen, Y. T., Graca, L., Vaz, M. F., and Fonseca, J. E. Chronic arthritis leads to disturbances in the bone collagen network. *Arthritis Res. Ther*. 12(1):R9, 2010.
- Tanaka, S., Maeda, S., Hashimoto, M., Teradaira, S., Hirota, K., Yoshitomi, H., Katakai, T., Shimizu, A., Nomura, T., Sakaguchi, N., and Sakaguchi, S. Graded attenuation of TCR signaling elicits distinct autoimmune diseases by altering thymic T cell selection and regulatory T cell function. *J. Immunol*. 185:2295-305, 2010.
- Hashimoto, M., Hirota, K., Yoshitomi, H., Maeda, S., Teradaira, S., Akizuki, S., Prieto-Martin, P., Nomura, T., Sakaguchi, N., Köhl, J., Heyman, B., Takahashi, M., Fujita, T., Mimori, T., Sakaguchi, S. Complement drives Th-17 cell differentiation and triggers autoimmune disease. *J. Exp. Med*. 207:1135-43, 2010.
- Haque, A., Stanley, A. C., Amante, F. H., Rivera, F. D., Zhou, Y., Kuns, R. D., Yardley, V., Sakaguchi, S.

- Hill, G. R., and Engwerda, C. R. Therapeutic Glucocorticoid-Induced TNF Receptor-Mediated Amplification of CD4⁺ T Cell Responses Enhances Antiparasitic Immunity. *J. Immunol.* 184:2583-2592, 2010.
- Teng, M.W., Swann, J.B., von Scheidt B, Sharkey, J., Zerafa, N., McLaughlin, N., Yamaguchi, T., Sakaguchi, S., Darcy, P.K., and Smyth, M.J. Multiple antitumor mechanisms downstream of prophylactic regulatory T-cell depletion. *Cancer Res.* 70:2665-2674, 2010.
- Saini, M., Sinclair, C., Marshall, D., Tolaini, M., Sakaguchi, S., and Seddon, B. Regulation of Zap70 expression during thymic development allows temporal separation of CD4 and CD8 repertoire selection at different signaling thresholds. *Science Signaling.* 3(114):ra23 2010.
- Sakaguchi, S., Miyara, M., Costantino, C. M., and Hafler, D. A. FOXP3⁺ regulatory T cells in the human system. *Nat. Rev. Immunol.* 185:2295-305, 2010.
- Ohkura, N., and Sakaguchi, S. Regulatory T cells: roles of Tcell receptor for their development and function. *Semin. Immunopathol.* 32:95-106, 2010.
- Nishikawa, H., and Sakaguchi, S. Regulatory T cells in tumor immunity. *Int. J. Cancer.* 127:759-67, 2010.
- Mitsui, J., Nishikawa, H., Muraoka, D., Wang, L., Noguchi, T., Sato, E., Kondo, S., Allison, J. P., Sakaguchi, S., Old, L. J., Kato, T., and Shiku, H. Two distinct mechanisms of augmented antitumor activity by modulation of immunostimulatory/inhibitory signals. *Clin. Cancer Res.* 16:2781-91, 2010.
- Nafady-Hego, H., Li, Y., Ohe, H., Zhao, X., Satoda, N., Sakaguchi, S., Wood, K., Uemoto, S., and Koshihara, T. The generation of donor-specific CD4⁺CD25⁺CD45RA⁺ naïve regulatory T cells in operationally tolerance patients after pediatric living-donor liver transplantation. *Transplantation.* 90:1547-55, 2010.
- Sakaguchi, S. Conditional stability of T cells. *Nature.* 468:41-42, 2010.
- Fujii, H., Arakawa, A., Kitoh, A., Miyara, M., Kato, M., Kore-Eda, S., Sakaguchi, S., Miyachi, Y., Tanioka, M., and Ono, M. Perturbations of both non-regulatory and regulatory FOXP3(+) T cells in patients with malignant melanoma. *Br. J. Dermatol.* doi: 10.1111/j.1365-2133, 2010.
- Snell, L. M., McPherson, A. J., Lin, G. H., Sakaguchi, S., Pandolfi, P. P., Riccardi, C., and Watts, T. H. CD8 T cell-intrinsic GITR is required for T cell clonal expansion and mouse survival following severe influenza infection. *J. Immunol.* 185:7223-34, 2010.
- Ohkura N, Sakaguchi S. Foxo1 and Foxo3 help Foxp3. *Immunity.* 33:835-7, 2010.
- Sakaguchi, S. Regulatory T cells: history and perspective. *Methods in Molecular Biology.* 77: 1-13, 2011.
- Côté, A. L., Zhang, P., O'Sullivan, J. A., Jacobs, V. L., Clemis, C. R., Sakaguchi, S., Guevara-Patiño, J. A., and Turk, M. J. Stimulation of the glucocorticoid-induced TNF receptor family-related receptor on CD8 T cells induces protective and high-avidity T cell responses to tumor-specific antigens. *J. Immunol.* 186:275-83, 2011.
- Peterson, L. K., Shaw, L. A., Joetham, A., Sakaguchi, S., Gelfand, E. W., and Dragone, L. L. SLAP Deficiency Enhances Number and Function of Tregs Preventing Chronic Autoimmune Arthritis in SKG Mice. *J. Immunol.* In press.
- Kurotaki, D., Kon, S., Bae, K., Ito, K., Matsui, Y., Nakayama, Y., Kanayama, M., Kimura, C., Narita, Y., Nishimura, T., Iwabuchi, K., Mack, M., van Rooijen, N., Sakaguchi, S., Uede, T., and Morimoto, J. CSF-1-dependent red pulp macrophages regulate CD4 T cell responses. *J. Immunol.* In press.
- Ohe, H., et al., Minimal but essential doses of immunosuppression: a more realistic approach to improve long-term outcomes for pediatric living-donor liver transplantation. *Transplantation.* In press.
- Miyara, M., and Sakaguchi, S. FoxP3+CD4+ regulatory T cells: their knowns and unknowns. *Immunol. Cell. Biology.* In press.
- Ohkura, N., and Sakaguchi, S. Development of regulatory T cells: regulation of Foxp3 expression by pharmacological agents. *Trends in Pharmacological Sciences.* In press.

学会発表

(2008年)

- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
富山大学医学部大学院特別セミナー
(2008.1.7. 富山)
- 坂口志文：関節リウマチと T 細胞異常、第 12 回
リウマチフォーラム(2008.1.19. 東京)
- 坂口志文：制御性 T 細胞と免疫寛容、東京大学
2008 年基礎統合講義 (2008.2.6. 東京)
- Shimon Sakaguchi: The Role of Natural Regulatory
T Cells in Autoimmunity, 12th International
Conference on Lymphocyte Activation and
Immune Regulation (2008 2.8-10. California,
USA)
- 坂口志文：制御性 T 細胞と自己免疫病、第 8 回
神経・筋の免疫疾患を考える会 (2008.2.23.
大阪)
- 山口智之：CD25+CD4+制御性 T 細胞と腫瘍免疫、
第 5 回日本免疫治療学研究会学術集会
(2008. 3. 1. 横浜)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for
self-tolerance and immune homeostasis ,
“Immunology and Imaging “, Kick-off
Symposium of WPI Immunology Frontier
Research Center (2008.3.27-28. Osaka)
- Shimon Sakaguchi: Role of regulatory T cells in
tolerance and autoimmunity, EurAPS
International Symposium on Molecular
Background of Tolerance and Autoimmunity
(2008.4.10. Helsinki, Finland)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
第 6 回愛知免疫アレルギーを語る会
(2008.5.9. 名古屋)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for
self-tolerance and immune homeostasis,
2nd International Conference on Cutaneous
Lupus Erythematosus (2008.5.11-13. Kyoto)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune
tolerance and homeostasis, International
Investigative Dermatology 2008
(2008.5.14-17. Kyoto)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
第 12 回京都分子血液フォーラム
(2008.6.21. 京都)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
第 4 回広島肝臓プロジェクト研究センタ
ーシンポジウム (2008.7.11. 広島)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
第 23 回老化促進モデルマウス(SAM)研究
協議会 (2008.7.17-18. 京都)
- 坂口志文：からだを守る免疫の不思議、京都大
学再生医科学研究所第 3 回公開講演会
(2008.7.26. 京都)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
第 13 回京都外科侵襲研究会 (2008.8.2. 京
都)
- 坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、
日本免疫学会免疫サマースクール 2008
(2008.8.24-27. 淡路島)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for
self-tolerance and immune homeostasis, 13th
Congress of the Asia Pacific League of
Association for Rheumatology (APLAR2008)
(2008.9.23-27. Yokohama)
- 坂口志文：制御性 T 細胞を標的とした癌免疫の
可能性について、癌治療開発を目指した
最前線セミナー (2008.9.25. 東京)
- Shimon Sakaguchi: The role of CTLA-4 in
self-tolerance and immune homeostasis
mediated by regulatory T cells, The 10th
International Symposium on Dendritic Cells
(2008.10.1-5. Kobe)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune
tolerance and homeostasis, The 11th Kyoto
University International Symposium 2008
Frontier Bioscience in Modern Medicine
(2008.10.9-11. Shanghai China)
- Masahiro Ono: The molecular basis of the function
of Foxp3-expressing regulatory T cells, The
4th International Conference on Gene
Regulation in Lymphocyte Development

(2008.10.11-16. Rhodes Greece)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis, The 4th Congress of the Federation of Immunology Societies of Asia-Oceania 2008 (2008.10.17-20. Taipei Taiwan)

Shimon Sakaguchi: Keynote Lecture: Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis, International Conference on Regulatory T Cells and Clinical Application in Human Diseases (2008.10.25-27. Beijing China)

Shimon Sakaguchi: T Reg Cells, Primer on Tumor Immunology and Biological Therapy of Cancer, iSBTc (2008.10.30. San Diego USA)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis, International Conference on Immune Regulation in Health and Disease, Japan-German Immunology Seminar 2008 (2008.11.3-6. 福岡)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、特に腫瘍免疫について、第 2 回 21 世紀血液免疫研究会 (2008.11.8. 東京)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells: Key controllers of immune responses, The 7th Kimishige and Teruko Ishizaka Lecture in Immunology 2008, La Jolla Institute for Allergy and Immunology (2008.11.12. La Jolla USA)

Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for the control of immunological diseases, 2008 Keio Medical Science Prize Commemorative Symposium (2008.11.22. 東京)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫恒常性の維持、第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (2008.11.27-29. 東京)

Tomoyuki Yamaguchi : Construction of Treg cells without Foxp3、第 38 回日本免疫学会学術集会(2008.12.1-3. 京都)

Shimon Sakaguchi: Development and function of Foxp3-expressing regulatory T cells for self-tolerance and immune homeostasis, BMB2008 (2008.12.9-12. 神戸)

坂口志文:制御性 T 細胞による免疫応答制御、「免疫難病・感染症等の先進医療技術」第 5 回 (最終) 公開シンポジウム (2008.12.15. 品川)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、第 2 回三重造血器・固形腫瘍免疫研究会 (2008.12.19. 津)

坂口志文：制御性 T 細胞による免疫応答制御、大阪大学大学院セミナー (2008.12.22. 吹田)

Kajsa Wing, Paz Prieto-Martin, Yasushi Onishi, Takashi Nomura, Shimon Sakaguchi: The role of CTLA-4 specifically for CD4+Foxp3+ regulatory T cells in vivo. World Immune Regulation Meeting-II (2008. 3. 17-20 Davos Switzerland).

Makoto Miyara, Tomoko Shima, Akihiko Kitoh, Yumiko Yosioka, Akira Niwa, Cecile Tafllin, Toshio Heike, Dominique Valeyre, Alexis Mathian, Zahir Amoura, Tatsutoshi Nakahata, Tomoyuki Yamaguchi, Takashi Nomura, Kajsa Wing, Guy Gorochoy, Masahiro Ono, Shimon Sakaguchi: Functional delineation and differentiation dynamics of FoxP3-expressing subpopulation of CD4+ T cell in humans. World Immune Regulation Meeting-II (2008. 3. 17-20 Davos Switzerland).

鬼頭昭彦、小野昌弘、直江吉則、矢口浩子、大倉永也、北林一生、塚田俊彦、野村尚史、宮地良樹、谷内一郎、坂口志文：Foxp3+ 制御性 T 細胞の生体内抑制機能には Runx complex が必須である、第 18 回 Kyoto T Cell Conference (2008,6,13-14.京都)

前田伸治、秋月修治、橋本求、野村尚史、坂口教子、坂口志文: TCR シグナル伝達の補正による SKG マウス自己免疫性関節炎の発症抑制、第 18 回 Kyoto T Cell Conference (2008. 6. 13-14.)

山口智之、岸歩美、坂口志文：Foxp3 による免疫制御のメカニズム/ How does Foxp3 control Treg suppression? 第 38 回日本免疫学会学術集会(2008.12.1-3. 京都)

Kitoh Akihiko, Ono Masahiro, Naoe Yoshinori,

Yaguchi Hiroko, Ohkura Naganari,
Kitabayashi Issei, Tsukada Toshihiko,
Nomura Takashi, Miyachi Yoshiki Taniuchi
Ichiro, Sakaguchi Shimon: Runx 複合体は
CD4+FoxP3+制御性 T
細胞の生体内抑制活性に必須である/

Runx complexes are required for
CD4+FoxP3+ regulatory T-cell function in
vivo、第 38 回日本免疫学会学術集会
(2008.12.1-3. 京都)

Prieto-Martin Paz, Wing Kajsa, Yamaguchi
Tomoyuki, Nomura Takashi, Sakaguchi
Shimon CTLA-4 expression on Foxp3+
regulatory T cells plays a key role in tumor
immunity and autoimmunity、第 38 回日本免
疫学会学術集会(2008.12.1-3. 京都)

野村尚史、秋月修治、前田伸治、橋本求、齊藤
隆、坂口教子、坂口志文: TCR シグナル
不全による制御性 T 細胞分化障害と自己
免疫病の発症・Autoimmune disease caused
by Treg insufficiency due to defective TCR
signaling、第 38 回日本免疫学会学術集会
(2008.12.1-3. 京都)

橋本求、廣田圭司、吉富啓之、前田伸治、寺平
晋、野村尚史、坂口教子、岩倉洋一郎、
三森経世、坂口志文: SKG マウスの関節
炎発症における dectine-1 依存的、非依存
的な経路の解析/Dectin-1-dependant and
-independent pathway for the induction of
arthritis in SKG mice、第 38 回日本免疫学
会学術集会(2008.12.1-3. 京都)

前田伸治、田中聡、廣田圭司、橋本求、寺平晋、
秋月修治、野村尚史、上田龍三、坂口教
子、坂口志文: TCR シグナル伝達の補正
による SKG マウス自己免疫性関節炎の発
症抑制/Rescue of autoimmune arthritis in
SKG mice by normalization of TCR signal
transduction、第 38 回日本免疫学会学術集
会(2008.12.1-3. 京都)

Yoshinaga Ito, Takashi Usui, Shio Kobayashi,
Mikiko Iguchi, Hiromu Ito, Hiroyuki
Yoshitomi, Takashi Nakamura, Motomu
Hashimoto, Noriko Sakaguchi, Shimon
Sakaguchi Tuneyo Mimori: $\gamma\delta$ T 細胞はコラ
ーゲン誘発性関節炎局所における主要な

IL-17 産生細胞である/Gamma delta T cells
are the predominant IL-17-producing cells in
affected joint of collagen-induced arthritis、第
8 回日本免疫学会学術集会(2008.12.1-3.
京都)

荒川明子、小野昌弘、藤井弘子、中村元信、坂
口志文。宮地良樹 円形脱毛症患者の制
御性 T 細胞減少/Altered frequency of
regulatory T cells in alopecia areata patient、
第 38 回日本免疫学会学術集会(2008.12.1-3.
京都)

山口智之、Paz Prieto-Martin, Kajsa Wing、大西康、
坂口志文: 制御性 T 細胞による免疫制御
の機序「免疫難病・感染症等の先進医療
技術」第 5 回 (最終)公開シンポジウム
(2008.12.15. 品川)

小野昌弘、鬼頭昭彦、直江吉則、矢口浩子、大
倉永也、北林一生、塚田俊彦、野村尚史、
宮地良樹、谷内一郎、坂口志文: Foxp3+
と AML1/Runx1 の相互作用による制御性
T 細胞の機能制御、「免疫難病・感染症等
の先進医療技術」第 5 回(最終)公開シンポ
ジウム (2008.12.15. 品川)

前田伸治、田中聡、廣田圭司、橋本求、寺平晋、
秋月修治、野村尚史、上田龍三、坂口教子、坂
口志文: TCR シグナル伝達の補正による SKG マ
ウス自己免疫性関節炎の発症抑制「免疫難病・
感染症等の先進医療技術」第 5 回 (最終)公開シ
ンポジウム (2008.12.15. 品川)

(2009年)

坂口志文: 制御性 T 細胞による免疫応答制御
JOINT FORUM (2009.1.7-8 熊本)

Shimon Sakaguchi: Biology and function of
regulatory T Cells Regulatory: T cells and
Cancer Immunotherapy (2009 2.3. London,
UK)

Tomoyuki Yamaguchi: Construction of Treg cells
without Foxp3 The 2nd International
Symposium of WPI-IFReC (2009.2.12-13、大
阪)

- 坂口志文:制御性T細胞による免疫応答制御 日本免疫治療学会研究会学術集会 (2009.2.21、東京) 2009 (2009 7.9-10.横浜)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for self-tolerance and immune homeostasis the Distinguished Speaker Seminar Series at National Jewish Health. University of Colorado (2009 2.27. Colorado, USA) 坂口志文:制御性T細胞による免疫応答制御 日本免疫学免疫サマースクール 2009 (2009.7.15-18 淡路島)
- Shimon Sakaguchi: Manipulation of Treg for Anti Tumor Therapy. KEYSTONE SYMPOSIA: Regulatory T Cells (2009 3.1-6. Colorado, USA) Shimon Sakaguchi: Control of immune responses by regulatory T cells JST-CIRM Joint meeting 2009 (2009. 8.31.-9.1.京都)
- Shimon Sakaguchi: CTLA-4-dependent mechanism of Treg-mediated in vivo and in vitro suppression. WORLD IMMUNE REGULATION MEETING-III (2009 3.22-25. Davos, Switzerland) Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis: towards their clinical use. TWINCORE-Symposium Infection Research and Beyond (2009.9.9-10. Hannover, Germany)
- Shimon Sakaguchi: T cell signaling, regulatory T cells and autoimmunity. Tolerance and Development. The Foundation des Treilles (2009 4.14-19 Tourtour France) Shimon Sakaguchi: CTLA-4 for Treg-mediated suppression, Tolerance and Immunoregulation-From basic mechanisms to therapeutic applications. Satellite Symposium of the European Congress of Immunology (2009 9.11-12. Berlin, Germany)
- 坂口志文: 関節リウマチとT細胞異常、第98回日本病理学会総会 (2009.5.1-3.京都) Shimon Sakaguchi: CTLA-4 Dependent Mechanism of Treg-Mediated In Vivo and In Vitro Suppression in Tumor Immunity. Control of Cancer Immunosuppression, The Challenge for Cancer Vaccine Development. The XVIIth Meeting of the Cancer Research Institute International Cancer Immunotherapy Symposium Series (2009 9.30-10. 2 New York, USA)
- Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immunological tolerance and immune homeostasis. The First International Kishimoto Foundation Symposium Immune Regulation: Present and Future (2009 5.25-27、大阪) Shimon Sakaguchi: T cell signaling, regulatory T cells and self-tolerance. 1st International Conference on Immune Tolerance (2009 10.25-27.Boston, U.S.A.)
- Shimon Sakaguchi: T cell signaling, regulatory T cells and self-tolerance. The 5th International Workshop of Kyoto T Cell Conference. (2009 6.1-4.京都) Shimon Sakaguchi: Regulatory T cells for immune tolerance and tumor immunity. International Symposium on Immunotherapy and immunodeficiency (2009 11.19-20. Heidelberg, Germany)
- Shimon Sakaguchi: Suppression Mechanisms of Foxp3⁺ Regulatory T Cells FOCIS 2009 (2009 6.11-14. San Francisco, USA)
- Shimon Sakaguchi: Control of immune response by regulatory T cells. 45th Joint Committee Meeting Japan-U.S. Cooperative Medical Science Program (2009 6.29-30. 札幌) 坂口志文: T細胞シグナリングと自己免疫病 第39回日本免疫学会総会学術集会 (2009.12.2-4 大阪)
- Shimon Sakaguchi: T cell signaling, regulatory T cells and autoimmunity. Cellular and Genetic View on Autoimmunity. RCAI-JSI International Symposium on Immunology Shimon Sakaguchi: Immune Tolerance. 10th FIMSA (Federation of Immunological Society of Asia-Oceania)Advanced Immunology Training Course (2009.12.3-6.Australia)