

## C. 研究結果

### 1. 各容積の平均値

- ◆ 頭蓋内容積 1392.9 ± 108.1 ml
- ◆ 脳脊髄液 257.4 ± 102.0 ml
- ◆ 脳容積 1135.5 ± 112.7 ml
- ◆ T2 高信号病巣 11.56 ± 11.5 ml

### 2. T2 高信号域と各臨床データやその他の容積の相関

- ◆ T2 高信号域容積は EDSS と有意に相関 ( $p < 0.01$ )
- ◆ T2 高信号域容積は脳脊髄液容積と相関の傾向 ( $p = 0.055$ )
- ◆ 年齢や罹病期間、MMSE、脳容積とは相関なし。

### 3. 脳容積との相関

- ◆ 脳容積と MMSE は相関の傾向 ( $p = 0.055$ )
- ◆ 脳容積と脳脊髄液容積、頭蓋容積は相関が強い (個人の頭蓋の大きさの要素)
- ◆ EDSS とは相関はまったくなし ( $p = 0.6$ )

### 4. 脳脊髄液との相関

- ◆ MMSE とは有意に相関 ( $p = 0.02$ )
- ◆ EDSS とは相関せず

### 5. ステップワイズでの多数の相関の結果

EDSS、MMSE をそれぞれ独立変数として検討したが採用された変数はなかった。(ひとつの変数で EDSS あるいは MMSE との回帰が有意なものなし。)

## D. 考察

Qbrain での容積測定は、完全自動でなく手動の作業が多少必要になるものの、比較的容易にかつ客観的に脳容積、脳脊髄液容積、T2 高信号域の測定することが可能であった。EDSS(日常生活能力)をは MS 病変(T2 高信号病変)と、一方 MMSE は脳容積(脳萎縮)が相関した。さらなる評価法の改善案としては、脳容積は個人差があるので群の統計には標準化が必要と思われる。

## E. 結論

個人を経時的にフォローする方法としては Qbrain は評価者による誤差がないので有用性が高い。今後新薬などの介入による、MS 再発予防効果をみる方法としては MRI の定量的解析がひとつの有力な手段である。

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Adachi Y, Sato N, Okamoto T, et al. Brachial and lumbar plexuses in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: MRI assessment including apparent diffusion coefficient. *Neuroradiology*.2011 53(1):3-11.
2. Nakata Y, Sato N, Masumoto T, et al. Parasellar T2-dark sign on MRI in patients with lymphocytic hypophysitis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010 31(10):1944-1950.
3. Yagi A, Sato N, Takahashi A, et al. Added value of contrast-enhanced CISS imaging in relation to conventional MR images for the evaluation of intracavernous cranial nerve lesions. *Neuroradiology*. 2010 Apr 10; 52:1101-1109.

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

特記すべきことなし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
研究分担報告書

核内転写因子標的医薬の薬効評価研究

研究分担者 氏名 大木 伸司

独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第六部 職名 室長

研究要旨 多発性硬化症(Multiple Sclerosis: MS)に代表されるさまざまな自己免疫疾患では、自己反応性の Th1 細胞や Th17 細胞が病態形成に深く関わる。これまでに我々は、MS の病原性に関わる自己反応性 T 細胞の機能の解明を目的として、MS 患者由来 T 細胞の網羅的遺伝子発現解析を行い、MS 患者由来末梢血 T 細胞では、健常人に比してオーファン核内受容体 NR4A2 遺伝子が選択的に発現亢進していることを見出し、本分子が活性化 T 細胞の炎症性サイトカイン産生を制御する可能性を明らかにした。今回、NR4A2 の分子機能をさらに解明するため、自己免疫病態の形成時における T 細胞の NR4A2 発現変化を詳細に解析した。その結果、NR4A2 は炎症を伴う IL-17 依存性 T 細胞反応に密接な関連を示す分子であり、T 細胞における発現が病態に相関して極めてダイナミックに変化することから、自己免疫病態の予測や疾患治療に応用可能な標的分子の有力な候補であることを明らかにした。

A. 研究目的

これまでに MS の病原性に関わる自己反応性 T 細胞の機能解明を目的として、病原性 T 細胞の網羅的遺伝子発現解析を進め、MS 患者由来末梢血 T 細胞で選択的に発現亢進しているオーファン核内受容体 NR4A2 分子が、活性化 T 細胞からの炎症性サイトカイン産生の制御に関わることを示してきた。今回、T 細胞における NR4A2 の機能をさらに明らかにするために、自己免疫病態形成時における NR4A2 の発現パターンを詳細に解析した。

B. 研究方法

C57BL/6J(B6) マウスに MOG<sub>35-55</sub> ペプチドあるいは hIRBP<sub>1-20</sub> ペプチドを免疫することで、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) あるいは実験的自己免疫性ブドウ膜炎 (EAU) を誘導した。対照抗原ペプチドとして、OVA<sub>323-339</sub> を免疫したマウスを用意して、同様に実験に用いた。さらに、B6 マウスに、ストレプトゾトシン (40mg/kg) を5日間腹腔内連投することで、STZ 誘導性糖尿病を発症させた。糖尿病の発症を確認するため、尿中グルコース量を定量した。EAE マウスから脳・脊髄、末梢血、リンパ節と脾臓を、EAU マウスから眼球、末梢血、リンパ節と脾臓を回収し、フローサイトメーターを用いてヘルパー T 細胞をソーティングした。脳・脊髄と眼球は、それぞれコラゲナーゼ・DNase I 処理した後、パーコール密

度勾配遠心法で単核球を分離し、ヘルパー T 細胞をソーティングした。Cytokine Secretion Assay Kit を組み合わせて、in vitro で PMA・イオノマイシン刺激した細胞について、IL-17 産生と IFN- $\gamma$  産生を指標に4分画し、各画分の NR4A2 発現を定量 RT-PCR 法を用いて定量した。

(倫理面への配慮)

すべての動物実験に関しては、当研究所の動物実験規定に従って作成した実験計画書の承認を受けて行った。

C. 研究結果

MOG ペプチドあるいは IRBP ペプチドを免疫して EAE あるいは EAU の発症を誘導したマウスでは、標的臓器である中枢神経系 (CNS) および眼球に浸潤した T 細胞の NR4A2 発現が、病態形成期 (~ day17) をピークに亢進した。一方、末梢血 T 細胞では、NR4A2 の発現が標的臓器浸潤 T 細胞より遅れて、病態形成後期 (day20 以降) をピークに認められた。免疫時に投与する完全フロイントアジュバントや百日咳毒素 (PTX) の単独投与では T 細胞の NR4A2 発現は誘導されないことから、自然免疫系の非特異的な活性化を含む炎症反応自体が、T 細胞の NR4A2 発現を誘導する可能性は否定された。さらに外来抗原である OVA ペプチドの免疫や、不完全フロイントアジュバントを用いた抗原免疫では

NR4A2 の発現は誘導されないことから、末梢血 T 細胞における NR4A2 発現亢進は、自己抗原に対する免疫応答と強く相関することが示された。次に、PTX を投与しなかったマウスでは、末梢血 T 細胞の NR4A2 発現亢進が認められないことから、NR4A2 の発現誘導には、自己反応性 T 細胞の標的臓器への初期浸潤が必須である可能性が示唆された。主に Th1 細胞応答が病態形成に関わることが知られている STZ 誘導性糖尿病マウスでは、末梢血 T 細胞および脾臓浸潤 T 細胞の NR4A2 発現亢進が認められないことから、Th17 細胞応答にともなって NR4A2 発現が亢進する可能性が示された。MOG 誘導性 EAE マウスの CNS 浸潤 T 細胞および末梢血 T 細胞中には、相当数の IL-17 産生細胞、IFN- $\gamma$  産生細胞と IL-17・IFN- $\gamma$  両産生細胞が認められた。IL-17 と IFN- $\gamma$  の産生を指標に分画した 4 群の T 細胞から抽出した RNA を用いて NR4A2 発現を定量した結果、IFN- $\gamma$  産生とは関係なく、IL-17 産生細胞に選択的な NR4A2 の高発現が認められた。以上の結果から、T 細胞の NR4A2 発現亢進が、EAE および EAU という 2 種の実験的自己免疫モデルにおいて、Th17 依存性の自己免疫応答時に普遍的に認められる現象であることが強く示唆された。

#### D. 考察

MS 患者末梢血の網羅的遺伝子発現解析の結果として見出され、病原性 T 細胞の炎症性サイトカイン産生を制御に深く関わる NR4A2 分子について、病態形成機構の観点から、EAE と EAU という 2 種類のマウス実験的自己免疫モデルを用いて、標的臓器浸潤 T 細胞と末梢血 T 細胞における発現の挙動を詳細に解析した。その結果、T 細胞の NR4A2 発現は、免疫操作に必要なアジュバントあるいは PTX の投与では誘導されず、非特異的な炎症反応が引き金となるわけではないことが明らかとなった。さらに T 細胞の NR4A2 発現は、外来抗原である OVA の免疫や、結核死菌を含まないアジュバントを用いた免疫でも誘導できないことから、in vivo での自己抗原反応性 T 細胞の分化に伴い発現亢進することが示された。また、標的臓器浸潤 T 細胞と末梢血 T 細胞における NR4A2 発現亢進の経時変化の違いと、PTX 非投与マウスでは末梢血の NR4A2 発現が誘導されないことから、自己抗原

反応性 T 細胞が、病態形成初期に標的臓器に浸潤し、NR4A2 発現が亢進した後で、末梢血中に移行している可能性が予想された。さらに、末梢血 T 細胞および標的臓器浸潤 T 細胞の中で、NR4A2 の発現は IL-17 産生細胞のみに選択的に認められ、IFN- $\gamma$  産生能とは相関しなかったことから、NR4A2 が T 細胞の IL-17 産生および Th17 細胞機能に極めて強く相関する重要な免疫応答制御因子であることが明らかとなった。末梢血 T 細胞の NR4A2 発現が、自己免疫応答選択的に上昇することから、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。

#### E. 結論

NR4A2 は、Th17 細胞依存性の自己免疫応答時に、T 細胞で選択的に発現する重要な免疫応答制御因子であり、自己免疫疾患の予測や治療における標的の有効な候補と考えられる。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

大木 伸司: 核内受容体を標的とした Th17 細胞制御と自己免疫疾患、生化学(日本生化学会編)、第 82 巻 745-750 (2010)

大木 伸司: 多発性硬化症の病態解析から新規治療法の開発へ、ファルマシア(日本薬学会編) 第 46 巻 745-749, (2010)

吉村 元、大木 伸司: Ustekinumab の有効性と疾患、Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology 第 4 巻 57-60, (2010)

##### 2. 学会発表

[国際学会]

Raveney B., **S. Oki**, T. Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells. *97th Annual Meeting of the American Association of Immunologist*, Baltimore,

May. 7<sup>th</sup>-11<sup>th</sup>, 2010

Raveney B., S. Oki, T. Yamamura: Expression of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for IL-17 production by Th17 cells.

*14<sup>th</sup> International Congress of Immunology*, Kobe, Aug. 22<sup>nd</sup>-27<sup>th</sup>, 2010

S. Oki, Raveney B., T. Yamamura: Oral administration of the synthetic retinoid Am80 ameliorates Th17-mediated autoimmunity of the eye and central nervous system

*14<sup>th</sup> International Congress of Immunology*, Kobe, Aug. 22<sup>nd</sup>-27<sup>th</sup>, 2010

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

『免疫修飾薬による多発性硬化症の治療成績向上を実現する探索的研究』  
-MR1 拘束性 NKT 細胞亜群の抗炎症性機能について；動脈硬化症をモデルとして

研究分担者 岩渕和也 北大遺制研免疫生物分野，北里大学医学部免疫学 教授  
研究協力者 小倉尚子・佐藤雅 北大大学院医学研究科免疫科学講座  
蜂屋佳織・阿部和眞 北大医学部保健学科検査技術学専攻

**研究要旨**

炎症反応に対するナチュラルキラーT (NKT)細胞亜群の応答とそのアウトカムを調べる目的で、動脈硬化症をモデルに、特に MHC-related protein 1 (MR1) 拘束性 NKT 細胞の病巣進展過程への関与について解析した。MR1/apolipoprotein E 二重欠損マウスを交配により樹立し、apoE 欠損マウスと動脈硬化症の進展について比較した結果、MR1 拘束性 NKT 細胞は、CD1d 拘束性亜群とは逆に、抗動脈硬化性に機能することを見出した。

**A. 研究目的**

我々は CD1d 欠損 ( $^{-/-}$ ) マウスを用いて CD1d 拘束性 NKT 細胞が動脈硬化症の進展を促進することを以前報告し<sup>1)</sup>、他の研究室からもまた同様な報告がなされた<sup>2-6)</sup>。一方、 $\beta_2m^{-/-}$ 骨髄細胞をドナー、低比重リポタンパク受容体欠損マウス ( $Ldlr^{-/-}$ ) をホストにした放射線骨髄キメラ [ $\beta_2m^{-/-} \rightarrow Ldlr^{-/-}$ ] に動脈硬化症を誘導した実験 ( $\beta_2m^{-/-} \rightarrow Ldlr^{-/-}$ ) では、野生型骨髄で  $Ldlr^{-/-}$  を再建したキメラ [ $WT \rightarrow Ldlr^{-/-}$ ] よりも動脈硬化症の病巣面積が大であった) から、自然 T 細胞中に動脈硬化症の進展に対して抑制的である細胞の存在が推測されていた (小倉, 未発表)。研究班代表の山村博士が多発性硬化症の軽症化に関与する細胞として明らかにした MR1 拘束性 NKT 細胞 (MAIT)<sup>7)</sup> が、動脈硬化症の進展に対しても抑制細胞として機能しているのではないかと我々は考えた。そこで MR1/apoE 二重欠損 (double knockout: DKO) マウスを交配により作出し、apoE 単独欠損 (single knockout: SKO) マウスと、それぞれの動脈硬化症の進展を比較することで、動脈硬化症における MR1

欠損 (=MAIT 欠損) の病巣進展に対する効果とそのメカニズムについて検討した。

**B. 研究方法**

**1. マウスと動脈硬化症病巣の解析**

動脈硬化症自然発症モデルである apoE SKO と、さらに MR1 も欠損した DKO の 2 系統のマウスに、それぞれ標準脂肪含有食 (Standard Fat Diet; SFD)、あるいは高脂肪食 (High Fat Diet; HFD) を 8 週から 5 週間給餌し、13 週齢でサンプリングを行った。大動脈弁直上から連続凍結切片を作製し、Oil red O 染色後、動脈硬化症病巣の面積を Scion Image ソフトウェアにて定量し、病巣面積を比較した。

**2. NKT 細胞のフローサイトメトリー解析**

SKO および DKO の CD1d 拘束性 NKT 細胞の動態を調べる目的で、若齢及び成熟マウスの肝臓・脾臓の CD1d 拘束性の type I, II NKT の割合を算出した。さらに、NKT 細胞活性化を調べる目的で CD69 陽性細胞の割合を算出した。なお NKT 細胞は、 $\alpha$ -galactosylceramide (GC) 負荷 CD1d-dimer<sup>+</sup>/TCR<sup>+</sup>の分画を Type I NKT 細胞、NK1.1<sup>+</sup>/TCR $\beta$ <sup>+</sup>の分画を total NKT 細胞

とし, type II NKT 細胞は, [total NKT 細胞(%)] - [type I NKT 細胞(%)]により算出した。

### 3. サイトカイン産生

サイトカイン産生は脾細胞 ( $2 \times 10^5$ /well) を  $\alpha$ -GC 20, 200 ng/ml にて 24 時間刺激した培養上清中の濃度を, フローサイトメトリーにて測定した (FlowCytomix™, Bender MedSystem)。

### 4. 病巣中の invariant TCR $\alpha$ 鎖の検出

動脈硬化症病巣中の invariant NKT (iNKT) 及び MAIT V  $\alpha$  鎖の存在を調べるために, PCR による検出を試みた。マウスの大動脈を採取, 抽出した RNA を cDNA に変換した後, V $\alpha$ 14 J $\alpha$ 18, V $\alpha$ 19J $\alpha$ 33 の発現を nested PCR を用いてそれぞれ調べた。配列は次の通りである 1, 8, 9)。  
 V $\alpha$ 14L; 5'-ATGAAAAGCGCCTGAGTGCC-3'  
 Ca rev; 5'-CAGGAGGATTCGGAGTCCCA-3'  
 V $\alpha$ 14; 5'-TAAGCACAGCACGCTGCACA-3'  
 J $\alpha$ 18; 5'-CAATCAGCTGAGTCCCAGCT-3'  
 mAV19; 5'-CTTTCCTGAGCCGCTCGAA-3'  
 Ca rev; 5'-CAGGAGGATTCGGAGTCCCA-3'  
 V $\alpha$ 19; 5'-GCTTCTGACAGAGCTCCAG-3'  
 J $\alpha$ 33; 5'-CTTGGTCCCAGAGCCCC-3'

### 5. 血液生化学

SKO, DKO から得られたそれぞれの血清の全コレステロール (total-CHO), 高密度リポタンパク質コレステロール (HDLc), トリグリセリド (triglyceride; TG), アラニルロイシルアミノトランスフェラーゼ (ALT) を Fuji ドライケムシステム (Fuji Film) にて測定した。

### 6. 倫理面への配慮

動物実験は, 主に実験を遂行した北海道大学において, 同委員会の審議を経たのち, 許可を得てから実施した。

## C. 研究結果

### 1. 動脈硬化病巣面積の比較

大動脈弁輪部病理組織を見ると, SFD・HFD 給餌群のいずれでも DKO で病巣が大きく, 面積の比較でも, DKO で有意に大きいことが判

明した(図 1)。

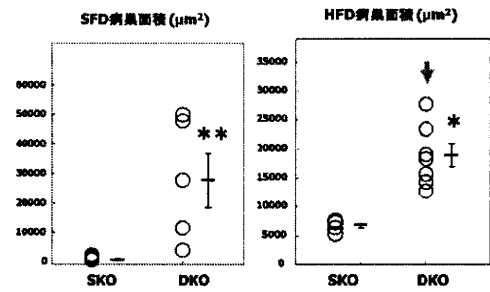
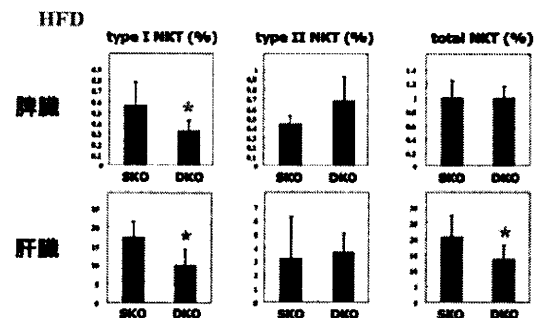


図 1. 各系統マウスにおける動脈硬化病巣 SFD (左)・HFD (右) 給餌の SKO・DKO マウスの病巣面積比較 (\* $p < 0.05$  \*\* $p < 0.01$ ).

### 2. 脾臓・肝臓における NKT 細胞の動態

動脈硬化巣解析時における脾臓と肝臓の NKT 細胞の割合は, DKO では両臓器ともに type I NKT (=iNKT)細胞の有意な減少が認められた(図 2A)。肝臓では, type I NKT 細胞の減少に起因すると考えられる total NKT 細胞の減少も認められた。この NKT 細胞減少のメカニズムを解析するために, 若齢と成熟マウスで NKT 細胞数, 活性化, NKT 細胞のサイトカイン産生を比較した。その結果, 若齢マウスでは肝臓・脾臓において iNKT 細胞数は SKO と DKO では差がない(図 2B)が, DKO で有意な活性化を認め(図 2D; CD69 $^{+}$ ↑),  $\alpha$ -GC 刺激による IFN- $\gamma$ , IL-4 等のサイトカイン産生が亢進していた(図 3A)。一方, 成熟マウスでは, NKT 細胞は激減(図 2C), CD69 $^{+}$ も低下(図 2E),  $\alpha$ -GC 刺激による IFN- $\gamma$ や IL-4 などの産生も有意に低下していた(図 3E)。



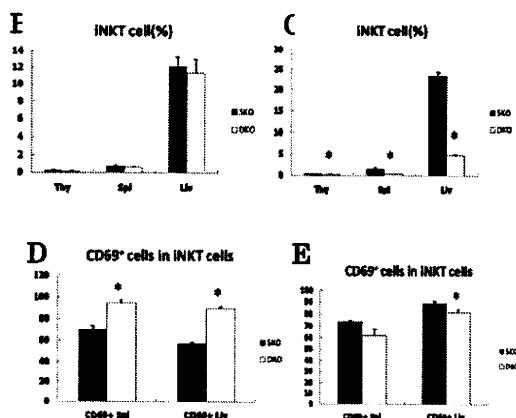


図 2. 各系統における NKT 細胞動態  
 A) 病巣解析のための採材時の各系統の肝・脾臓における NKT 細胞亜群の割合 B) 若齢マウスの iNKT の割合 C) 成熟マウスの iNKT の割合 D) 若齢マウスの iNKT の CD69<sup>+</sup> の割合 E) 成熟マウスの iNKT の CD69<sup>+</sup> の割合 (\*  $p < 0.05$ )

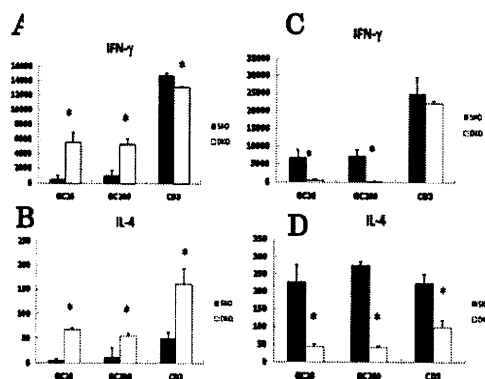


図 3. 各系統マウスのサイトカイン産生  
 A) 若齢マウスにおける  $\alpha$ -GC 刺激 IFN- $\gamma$  B) 若齢マウスにおける  $\alpha$ -GC 刺激 IL-4 産生 C) 成熟マウスにおける  $\alpha$ -GC 刺激 IFN- $\gamma$  D) 成熟マウスにおける  $\alpha$ -GC 刺激 IL-4 産生 (\*  $p < 0.05$ )

### 3. 動脈硬化病巣における NKT 細胞の存在

SKO 大動脈の PCR では、Va14Ja18、Va19Ja33 の両者、DKO からは Va14Ja18 のみの発現が確認でき (図 4)、それぞれの細胞は病巣局所で何らかの機能を発揮していることが推測された。

### 4. 血液生化学及び体重の比較

SFD 給餌マウスでは、体重は増加傾向

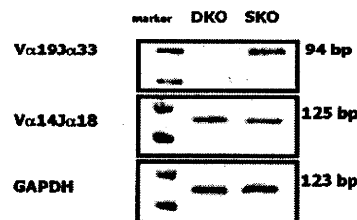


図 4. 大動脈標品の RT-PCR 結果

(SKO < DKO) を示したが、total-CHO, HDLC, triglyceride, ALT すべてにおいて差を認めなかった (SKO = DKO). HFD 給餌マウスでは、体重・triglyceride・ALT において DKO で有意な増加傾向を示した. 一方、動脈硬化症でより密接に関与すると考えられる total-CHO, HDLC に関しては両者間に差は認められなかった (SKO = DKO).

### D. 考察

WT と MR1 のみを欠損させた MR1<sup>-/-</sup>マウスにおいて 10 週齢から動脈硬化食 (AD) を 20 週間給餌すると、WT に比べて MR1<sup>-/-</sup>マウスで有意な病巣拡大が認められたため、今回の実験では動脈硬化症をより強く発現する apoE KO マウス (SKO) と MR1 を欠損した DKO の 2 系統のマウスを使用し、給餌する餌も SFD を対照に、AD の代わりに HFD を用いた. その結果、DKO マウスでは SFD・HFD いずれの給餌でも SKO マウスに比べて動脈硬化症病巣面積は進展するという結果が得られた. したがって、AD の結果とも併せ、餌の種類に関係なく MR1 を欠損することで動脈硬化症の進展は加速されることが考えられた.

標本作製のための採材時 13 週で、脾臓と肝臓の NKT 細胞をフローサイトメトリーで解析すると、NKT 細胞の減少が観察された. このことは MR1 分子の欠損により何らかの原因で高脂血症環境下 (正常レベルでも) に CD1d 拘束性 NKT 細胞が活性化したためと考えられた. したがって、若齢マウスと成熟マウスで NKT 細胞亜群の割合、特に両臓器での iNKT 細胞の

CD69 陽性率, iNKT からのサイトカイン産生について, 経時変化を比較した. その結果, 若齢・成熟 DKO マウスともに NKT 細胞動態と呼応するように IFN- $\gamma$ , IL-4 産生が増減していることが明らかとなった. すなわち, 若齢 DKO マウスで CD1d 拘束性 NKT 細胞の活性化が起こり始め, 週齢を重ねる経過で活性化が進行し, 成熟マウスでは活性化後に出来る機能低下が生じていることが推定された<sup>10)</sup>. MR1 の欠損による MAIT の欠損が, CD1d 拘束性 NKT 細胞の活性亢進を来し, 動脈硬化症の進展が促進された可能性が考えられる. すなわち, MAIT が iNKT 細胞の活性化を直接抑制している, あるいは APC などを通して間接的に iNKT 活性化を抑制する, など様々な可能性が考えられる. このことは NKT 細胞の調節機構を考える上で重要な知見と思われる. また NKT 細胞亜群間で相互に制御機構が働いているとすると, その制御機構への介入は動脈硬化症だけでなく, 広く免疫疾患・感染症などの治療標的となり得ると考えられる.

さらに, MAIT が直接動脈硬化病巣の進展をコントロールしている可能性もある. MAIT は IL-10 産生能が高く, 神経炎症の抑制機能が見出されており<sup>7)</sup>, 病巣進展の IL-10 を介した抑制は十分想定される. また成熟 DKO においては,  $\alpha$ -GC 刺激後の IL-10 が SKO に比して著しく低下しており, このことも動脈硬化促進性に強く作用していると考えられる(データ示さず). 現在 V $\alpha$ 19J $\alpha$ 33<sup>Tg</sup>/CaKO 由来 T 細胞を SKO に移入し, 病巣縮小効果があるか否かを現在検討中である. 実際, 大動脈標本から DNA を採取して行った PCR の結果では, SKO 動脈硬化症病巣中の iNKT, MAIT の存在が認められている. Laser microdissection などを用いて, 粥腫中で MAIT の局在を明らかにすることが今後の一つの課題である.

動脈硬化病巣拡大以外の DKO で特筆すべき

結果として, 体重の有意な増加が挙げられる. これは, SFD・HFD いずれの給餌でも観察された. この際, 血液生化学では total-CHO や HDLC に有意な差が認められず, HFD 給餌の DKO では triglyceride, ALT の 2 つのみが有意に増加していた. SFD 給餌では SKO と DKO の間で, これらの数値にも有意差は認められなかった. この現象は動脈硬化症の系で認められたように, CD1d 拘束性 NKT 細胞の活性調節との関連が推定されるが(佐藤, 阿部 未発表), そのメカニズムについては不明であり, この現象についても今後さらに検討していく必要があると考えられる.

## E. 結論

MR1 拘束性 NKT 細胞は, MS マウスモデルのみならず抗炎症性(抗動脈硬化性)に機能することを見出した.

## References:

1. Nakai Y et al *Blood* **104**: 2051, 2004.
2. Tupin E et al *J Exp Med* **199**: 417, 2004.
3. Major AS et al *ATVB* **24**: 2351, 2004.
4. Aslanian AM et al *ATVB* **25**: 628, 2005.
5. VanderLaan PA et al *AJP* **170**:1100, 2007.
6. Rogers L et al *Cardiovasc Res* **78**:167, 2008.
7. Croxford JL et al *Nat Immunol* **7**: 987, 2006.
8. Keino H et al *Microbiol Immunol* **43**:577, 1999.
9. Shimamura M et al *Immunol Lett* **121**:38, 2008.
10. Wilson MT et al *PNAS* **100**: 10913-8, 2003.

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Iwata D, Kitamura M, Kitaichi N, Saito Y, Kon S, Morimoto J, Miyazaki A, Kitamei H, Namba K-i, Yoshida K, Ohno S, Uede T, Onoé K, Iwabuchi K. Prevention of experimental autoimmune uveoretinitis by blockade of osteopontin with small inter-



- fering RNA. *Exp Eye Res* 90 (1): 41-8, 2010.
2. Ohmura K, Ishimori N, Ohmura Y, Tokuhara S, Nozawa A, Hori S, Andoh Y, Fujii S, Iwabuchi K, Onoe K, Tsutsui H. Natural killer T cells are involved in adipose tissue inflammation and glucose intolerance in diet-induced obese mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 30: 193-199, 2010.
  3. Hirata N, Yanagawa Y, Satoh M, Ogura H, Ebihara T, Noguchi M, Matsumoto M, Togashi H, Seya T, Onoé K, Iwabuchi K. Dendritic cell-derived TNF- $\alpha$  is responsible for development of IL-10-producing CD4<sup>+</sup> T cells. *Cell Immunol* 261 (1): 37-41, 2010.
  4. Iwata D, Kitaichi N, Ebihara A, Iwabuchi K, Yoshida K, Namba K, Ozaki M, Ohno S, Umezawa K, Yamashita K-i, Todo S, Ishida S, Onoé K. Nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) inhibitor, Dehydroxymethyl-epoxyquinomicin (DHMEQ) ameliorates experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51(4): 2077-84, 2010.
  5. Hayashi F, Yanagawa Y, Onoé K, Iwabuchi K. 2010. Dendritic cell differentiation with prostaglandin E<sub>2</sub> results in selective attenuation of the ERK pathway and decreased interleukin-23 production. *Immunology* 131 (1): 67-76, 2010.
  6. Kasamatsu J, Sutoh Y, Fugo K, Otsuka N, Iwabuchi K, and Kasahara M. Identification of a third variable lymphocyte receptor in the lamprey. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(32): 14304-8, 2010.
  7. Ebihara T, Azuma M, Oshiumi H, Kasamatsu J, Iwabuchi K, Matsumoto K, Saito H, Taniguchi T, Matsumoto M, and Seya T. 2010. Identification of INAM, a polyI:C-inducible membrane protein, that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J Exp Med* 207 (12): 2675-87, 2010.
  8. Hirata N, Ogura H, Satoh M, Noguchi M, Matsumoto M, Togashi H, Onoe K, Iwabuchi K. The role of tumor necrosis factor- $\alpha$  for interleukin-10 production by murine dendritic cells. *Cell Immunol* 266 (2): 165-71, 2011.
  9. 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, Morimoto J. CSF-1-dependent red pulp macrophages regulate CD4<sup>+</sup> T cell responses. *J Immunol* 186: 2229-37, 2011.
2. 学会発表
1. 岩淵和也・佐藤雅・小倉尚子・小野江和則・Susan Gilfillan, Luc Van Kaer・島村道夫・三宅幸子・山村隆. 生活習慣病マウスモデルにおける CD1d 拘束性と MR1 拘束性 NKT 細胞の異なる機能発現. 第 20 回 KTCC. 2010. 6. 5 (京都)
  2. Ogura H, Satoh M, Gilfillan S, Miyake S, Onoé K, Iwabuchi K. MR1-restricted NKT cells exhibit beneficial role for the development of atherosclerosis. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology 2010. 8. 23 (Kobe).
  3. Satoh M, Ogura H, Andoh Y, Nakayama, Tanihuchi M, Onoé K, Iwabuchi K. Type II NKT cells operate diet-induced obesity. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology 2010. 8. 23 (Kobe).
  4. Hirata N, Yanagawa Y, Iwabuchi K, Satoh M, Ogura H, Seya T, Onoé K, Noguchi M. The role of dendritic cell-produced TNF- $\alpha$  in generation of IL-10-producing CD4<sup>+</sup> T cells. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology 2010. 8. 24 (Kobe).
  5. Hayashi F, Yanagawa Y, Onoé K, Iwabuchi K. Selective attenuation of the ERK pathway and decreased interleukin-23 production in dendritic cells differentiated with prostaglandin E<sub>2</sub>. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology 2010. 8. 25 (Kobe).
  6. Iwabuchi K, Iwata D, Kitamura M, Kitaichi N, Kon S, Kitamei H, Namba K, Yoshida K, Ishida S, Ohno S, Rittling SR, Denhardt DT, Uede T, Onoé K. Amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis by blockade of osteopontin with antibody or small interfering RNA. 14<sup>th</sup> International Congress of Immunology 2010. 8. 27 (Kobe).
- H. 知的財産権の出願、登録状況  
なし

FTY720 によるヒトミクログリアアポトーシスの分子機構の解析

分担研究者 佐藤 準一 明治薬科大学薬学部バイオインフォマティクス教授

**研究要旨** FTY720(fingolimod)は、本邦において開発された sphingosine 1-phosphate(S1P)受容体調節薬である。多発性硬化症(multiple sclerosis; MS)の経口治療薬として FDA の承認を受けた。FTY720 は生体内で sphingosine kinase-2 によりリン酸化された活性型(S)-FTY720-phosphate(FTY720P)が、S1P1, S1P3, S1P4, S1P5 受容体の functional antagonistとして働き、自己反応性 central memory T( $T_{CM}$ )細胞のリンパ節からの遊出を抑制して、免疫調節作用を呈する。FTY720 は脳移行性が高く、オリゴデンドロサイトやアストロサイトに作用して、髄鞘再生促進やグリア瘢痕形成抑制に働くが、中枢神経系抗原提示細胞であるミクログリアに対する直接的作用は十分解明されていない。MS 脳病巣では S1P1 陽性 CD68 陽性細胞の集積を認める。本研究では FTY720 の培養ヒトミクログリア HMO6(S1P1, S1P2, S1P3 陽性)に対する薬理作用を解析した。FTY720 は濃度(>10  $\mu$ M)依存性に 6 時間以内に HMO6 のアポトーシスを誘導した。一方 FTY720P, SEW2871(S1P1 agonist)は同じ濃度で HMO6 のアポトーシスを誘導しなかった。FTY720 によるアポトーシスは pertussis toxin(Gi inhibitor), suramin (S1P1/S1P3 inhibitor), W123(S1P1 inhibitor)では抑制されなかったが、Z-DQMD-FMK(caspase-3 inhibitor)では抑制された。FTY720 は 2 時間以内に、転写因子 SREBP 制御遺伝子群(INSIG1, HMGCS1, LDLR, HMGCR, MVK)の発現を誘導した。FTY720 は HMO6 において SREBP2 を活性化した。また simvastatin(HMG-CoA reductase inhibitor)前投与は SREBP2 を活性化し、FTY720 によるアポトーシスを増強した。以上より、FTY720 はリン酸化非依存性、S1P1 受容体非依存性に、ヒトミクログリアに対してアポトーシスを誘導することがわかった。Caspase-7 は SREBP の標的遺伝子なので、アポトーシス誘導機序として、コレステロールホメオステシスの攪乱を介するカスパーゼの活性化が考えられる。

#### A. 研究目的

MS は、自己抗原反応性 T 細胞により惹起され、時間的空間的多発を特徴とする中枢神経系炎症性脱髄疾患である。回復期には髄鞘再生を認めるが、再発を反復して炎症が遷延化すると、軸索傷害や神経変性を来して不可逆的な機能障害を残す。治療としては、急性期に炎症抑制目的で副腎皮質ステロイドパルス(IVMP)、寛解期に再発抑制目的でインターフェロンベータ(IFNB)継続的投与がなされるが、完治

にはほど遠い。FTY720(fingolimod)は、京都大学藤田教授が発見した冬虫夏草菌 *Isaria sinclairii* から抽出した化合物を構造変換して得られた sphingosine analogue で、sphingosine 1-phosphate(S1P)受容体調節薬である。FTY720 は S1P1, S1P3, S1P4, S1P5 に結合する。MS 経口治療薬として、臨床試験で顕著な有効性を認め (Kappos L et al. New Engl J Med 355: 1124-1140, 2006)、2010 年 9 月に US Food and Drug Administration(FDA)により承認された。生体内では FTY720 は

sphingosine kinase-2 によりリン酸化され、活性型 (S)-FTY720-phosphate(FTY720P) に変換される。FTY720P はリンパ球表面上の S1P1 に結合して、受容体の内在化(internalization)と分解(ubiquitination and proteasomal degradation)を促進することにより、functional antagonistとして働く。S1P 濃度勾配に従う自己反応性 central memory T( $T_{CM}$ )細胞の胸腺やリンパ節からの遊出を抑制することにより、免疫調節作用を呈する(Brinkmann V et al. Nat Drug Discov 9: 883-897, 2010)。

FTY720 は脂溶性で、血液脳関門を通過して脳移行性が高く、オリゴデンドロサイトやアストロサイトに直接作用して、髄鞘再生促進やグリア瘢痕形成抑制に働く(Dev KK et al. Pharmacol Ther 117: 77-93, 2008)。MS 脳病巣では S1P1 陽性 CD68 陽性細胞の集積を認める(Van Doorn R et al. Glia 58: 1465-1476, 2010)。しかしながら現在まで、FTY720 のミクログリアに対する直接的薬理作用は明らかではない。

本研究では、培養ヒトミクログリア HMO6 に対する FTY720 の薬理作用を解析した。本研究の成果は、MS における新規治療薬開発に貢献し、厚生労働行政を主導とする患者の QOL 向上につながる。

## B. 研究方法

1. Sphingosine 1-phosphate(S1P)受容体発現解析: 各種ヒト神経系・非神経系細胞株から TRIZOL で total RNA を抽出し、RT-PCR で S1P1(EDG1), S1P2(EDG2), S1P3(EDG3), S1P4(EDG6), S1P5(EDG8)の発現を調べた。

2. FTY720 によるアポトーシス誘導の解析: FTY720(Calbiochem) および FTY720P(Echelon Biosciences)は dimethylsulfoxide(DMSO)に溶解した。ヒトミクログリア細胞株 HMO6(Nagai A et al. Neurobiol

Dis 8: 1057-1068, 2001)を 10% FBS 添加 Dulbecco's MEM で培養し、0-20  $\mu$ M FTY720 に 15 分-24 時間暴露後に、RIPA buffer で溶解し、total protein を抽出した。抗 poly-(ADP-ribose)-polymerase(PARP)抗体(Roche)によるウエスタンブロットで、non-cleaved PARP(116-kDa), cleaved PARP(85-kDa; a marker of apoptosis)を検出した。

3. 遺伝子発現プロファイル解析: HMO6 を 10  $\mu$ M FTY720 or DMSO(vehicle)に 2 時間暴露後に、TRIZOL Plus RNA Purification kit(Invitrogen)で total RNA を抽出し、Human Gene 1.0 ST Array(28,869 genes; Affymetrix)を用いて遺伝子発現プロファイルを解析した。生物情報統合プラットフォーム KeyMolnet(医薬分子設計研究所)を用いて、FTY720 投与により 2 倍以上上昇した遺伝子の分子ネットワークを周辺検索法で解析した。

(倫理面への配慮)

HMO6 は既存の培養細胞株であり、使用に当たり倫理的な問題はない。

## C. 研究結果

1. ヒト神経系・非神経系細胞株における S1P 受容体の発現

ヒト大脳、アストロサイト(AS), 神経前駆細胞(NP), Ntera2 由来神経細胞(Ntera2N), SK-N-SH 神経芽細胞腫、U-373MG 星状膠細胞腫、HeLa 子宮頸癌細胞では、高低は有るものの、S1P1, S1P2, S1P3, S1P4, S1P5 全ての mRNA の発現を認めた。一方ヒトミクログリア細胞株 HMO6 では主として S1P1, S1P2, S1P3 mRNA の高発現を認めた。Y79 網膜芽細胞腫と HepG2 肝芽細胞腫では S1P1 mRNA の発現を認めなかった。

2. FTY720 のヒトミクログリア HMO6 に対するアポトーシス誘導能

FTY720 は 10  $\mu\text{M}$  以上の濃度で 6 時間以内に HMO6 のアポトーシスを誘導した(Fig. 1)。通常の培養条件下では小型紡錘型の HMO6 は、球状に膨化して、プレートから離脱した。10  $\mu\text{M}$  FTY720, 12 時間による HMO6 のアポトーシスは、100 nM pertussis toxin(Gi inhibitor), 10  $\mu\text{M}$  suramin (S1P1/S1P3 inhibitor), 10  $\mu\text{M}$  W123(S1P1 inhibitor)の同時投与では抑制されなかったが、Z-DQMD-FMK(caspase-3 inhibitor)では抑制された。一方 FTY720P, SEW2871(S1P1 agonist)は 10  $\mu\text{M}$ , 12 時間で HMO6 に対してアポトーシスを誘導しなかった。

### 3. FTY720 により発現誘導される遺伝子群の解析

HMO6 を 10  $\mu\text{M}$  FTY720 または等量の DMSO に 2 時間暴露し、DNA マイクロアレイで遺伝子発現プロファイルを解析した。FTY720 により 2 倍以上発現上昇した 30 遺伝子には、コレステロール代謝系転写因子 sterol regulatory element binding transcription factor(SREBP) により制御される遺伝子群(SREBP-responsive genes; INSIG1, HMGCS1, LDLR, HMGCR, MVK)が集積していた。INSIG1 と LDLR の発現上昇は real-time RT-PCR で確認出来た。発現上昇した 30 遺伝子の分子ネットワークを解析すると、SREBP による発現調節系( $p = 1.029\text{E-}021$ )の関与が示唆された(Fig. 2)。

FTY720 は HMO6 において SREBP2 を活性化し、SREBP2 60-kDa fragment(active form)を検出出来た。また simvastatin(HMG-CoA reductase inhibitor)前投与は SREBP2 を活性化し、FTY720 によるアポトーシスを増強した。

## D. 考察

本研究の結果より、ヒト中枢神経系では、ミクログリアも S1P1 を発現していることがわかった。FTY720 は経口投与で、血液脳関門を通過する。しかしながら

FTY720 は 10  $\mu\text{M}$  以上の濃度で、ヒトミクログリアに対して、リン酸化非依存性、受容体非依存性にアポトーシスを誘導することがわかった。臨床では 100 分の 1 程度の濃度(nM order)で、治療効果(免疫調節作用)を呈する。現在まで、FTY720 に関しては重大な副作用は報告されていない。FTY720 は主として肝ミクロゾーム酵素 CYP4F2 により代謝されるので(Jin Y et al. Drug Metab Dispos 2010, in press; PMID 21045201)、薬物代謝に SNP に基づく個人差があれば、血中濃度が危険領域まで上昇しうる。また FTY720 は PP2A を活性化し、Akt を脱リン酸化することにより、アポトーシスを誘導するとの報告がある(Matsuka Y et al. Br J Pharmacol 138: 1303-1312, 2003)。本研究の結果からは、FTY720 による SREBP2 の活性化とアポトーシスのリンクが示唆された。Caspase-7 は、SREBP-1, SREBP-2 の標的遺伝子であることが報告されている(Gibot L et al. Biochem J 420: 473-483, 2009)ので、FTY720 によるアポトーシス誘導機序として、コレステロールホメオステシスの攪乱を介するカスパーゼの活性化が考えられる(Fig. 3)。

## E. 結論

FTY720 は培養ヒトミクログリア HMO6 に対して、リン酸化非依存性、受容体非依存性にアポトーシスを誘導することがわかった。機序として、コレステロールホメオステシスの攪乱を介するカスパーゼの活性化が考えられた。

## F. 健康危険情報

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sumiyoshi K, Obayashi S, Tabunoki H, Arima K, Satoh J: Protein microarray analysis identifies

- cyclic nucleotide phosphodiesterase as an interactor of Nogo-A. *Neuropathology* 30(1): 7-14, 2010.
2. Satoh J, Obayashi S, Tabunoki H, Wakana T, Kim SU: Stable expression of neurogenin 1 induces LGR5, a novel stem cell marker, in an immortalized human neural stem cell line HB1.F3. *Cellular and Molecular Neurobiology* 30(3): 415-426, 2010.
  3. Shiina Y, Arima K, Tabunoki H, Satoh J: TDP-43 dimerizes in human cells in culture. *Cellular and Molecular Neurobiology* 30(4): 641-652, 2010.
  4. Shioya M, Obayashi S, Tabunoki H, Arima K, Saito Y, Ishida T, Satoh J: Aberrant microRNA expression in the brains of neurodegenerative diseases: miR-29a decreased in Alzheimer disease brains targets neuron navigator-3. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 36(4): 320-330, 2010.
  5. Satoh J: Bioinformatics approach to identifying molecular biomarkers and networks in multiple sclerosis. *Clinical and Experimental Neuroimmunology* 1(3): 127-140, 2010.
  6. Satoh J: MicroRNAs and their therapeutic potential for human diseases: Aberrant MicroRNA Expression in Alzheimer Disease Brains. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 114(3): 269-275, 2010.
  7. Satoh J, Tabunoki H, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Futamura N, Kobayashi M, Toyoshima I, Yoshioka T, Enomoto K, Arai N, Arima K. Immunohistochemical characterization of microglia in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathology* 2010, in press.
  8. Numasawa Y, Yamaura C, Shintani S, Yamazaki M, Tabunoki H, Satoh J. Nasu-Hakola disease with a splicing mutation of TREM2 in a Japanese family. *European Journal of Neurology* 2010, in press.
  9. 佐藤準一: 多発性硬化症病変分子のネットワーク解析. ヒト免疫疾患研究の新展開-From clinic to bench. *日本臨床免疫学会会誌* 33(4): 182-188, 2010.
- 著書
10. 佐藤準一: アクアポリン-4(AQP-4). 多発性硬化症(MS)診療のすべて. 山村隆編. 診断と治療社, 2011, 印刷中.
  11. 佐藤準一: 多発性硬化症(MS)の血液診断. 多発性硬化症(MS)診療のすべて. 山村隆編. 診断と治療社, 2011, 印刷中.
  12. 佐藤準一: DNA マイクロアレイ. 多発性硬化症(MS)診療のすべて. 山村隆編. 診断と治療社, 2011, 印刷中.
2. 学会発表
- 国際学会
1. Satoh J, Tabunoki H, Kim SU, Ishida T, Jinnai K, Arima K: Immunopathogenesis of Nasu-Hakola disease brain lesions. 14th International Congress of Immunology. Kobe, 2010.8.23.
  2. Satoh J, Tabunoki H, Kim SU, Ishida T, Jinnai K, Arima K: Immunopathogenesis of brain lesions of Nasu-Hakola disease. 10th International Congress of Neuroimmunology. Barcelona, 2010.10.27.
- 国内学会
1. 佐藤準一, 塩谷真央, 尾林信哉, 天竺桂弘子, 石田剛, 有馬邦正: アルツハイマー病脳で発現低下している miR-29a の標的遺伝子 neuron navigator 3. 第51回日本神経病理学会学術研究

- 会.東京、2010.4.24.
2. 高橋広行、中馬越清隆、塩谷彩子、佐藤準一、玉岡 晃:DAP12 遺伝子変異を認めた那須ハコラ病の36歳男性例. 第 193 回日本神経学会関東・甲信越地方会. 東京、2010.6.5.
  3. 佐藤準一、天竺桂弘子、有馬邦正、陣内研二:那須ハコラ病の臨床病理遺伝学的研究. 第 51 回日本神経学会総会. 東京、2010.5.20.
  4. 佐藤準一:脳疾患における microRNA 発現の網羅的解析. 第 122 回日本薬理学会関東部会シンポジウム. 再生医療および中枢性機能疾患における神経分化制御とエピジェネティクス. 静岡、2010.6.5.

5. 佐藤準一、塩谷真央、天竺桂弘子、尾林信哉、有馬邦正、齋藤祐子、石田剛:アルツハイマー病脳で発現低下している miR-29a の標的遺伝子 NAV3. 第 33 回日本神経科学大会. Neuro2010. 神戸、2010.9.2.

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
なし

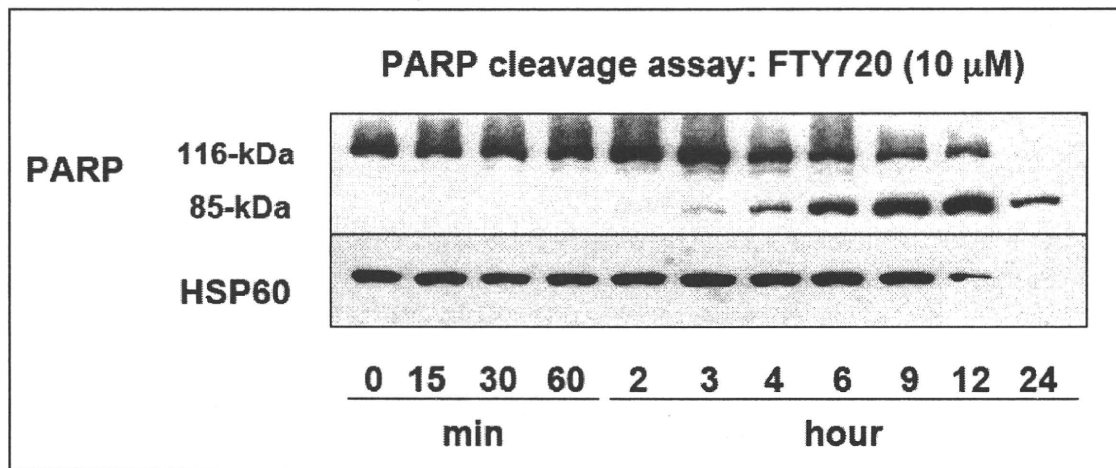


図 1. FTY720 による HMO6 のアポトーシスの誘導.

HMO6 を 10  $\mu$ M FTY720 で 15 分-24 時間処理し、PARP と HSP60(an internal control)の western blot を行い、non-cleaved PARP(116-kDa), cleaved PARP(85-kDa; a marker of apoptosis)を検出した。

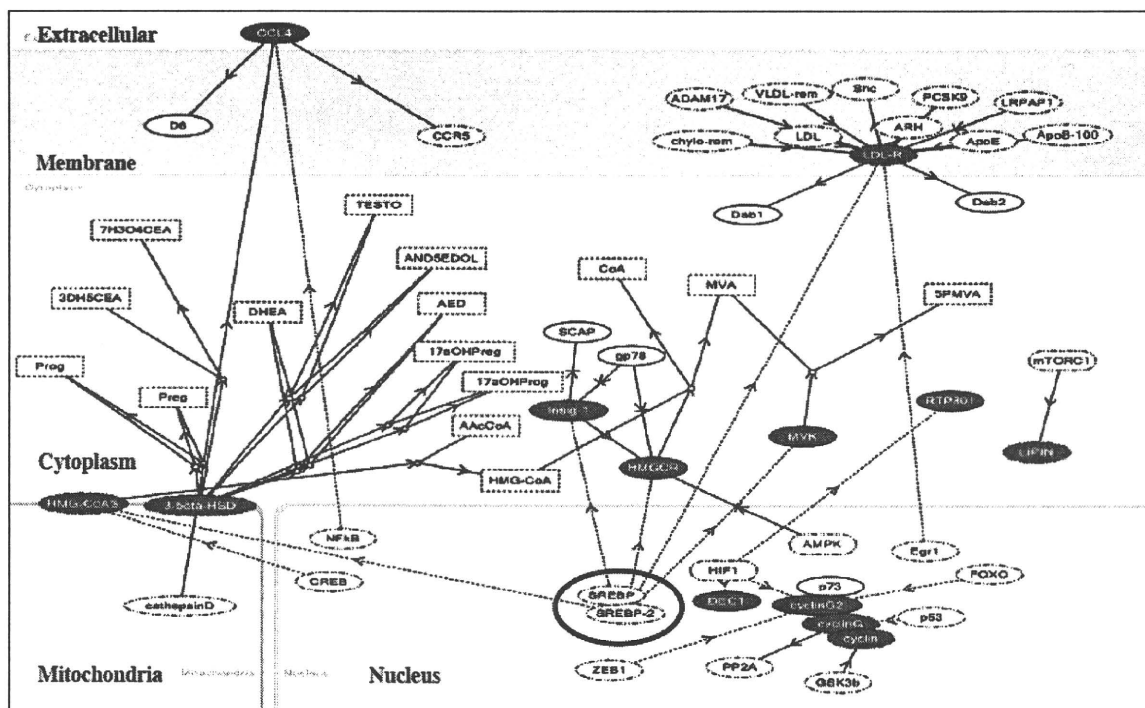


図 2. FTY720 で発現上昇した遺伝子群の分子ネットワーク。

HMO6 を 10  $\mu$ M FTY720 or isovolume DMSO に 2 時間暴露後に、total RNA を抽出、Human Gene 1.0 ST array で遺伝子発現プロファイルを解析した。FTY720 で 2 倍以上発現上昇した遺伝子群に関して、分子ネットワークを KeyMolnet の周辺検索法で解析した。SREBP による発現調節系の関与が示唆された ( $p = 1.029E-021$ )。



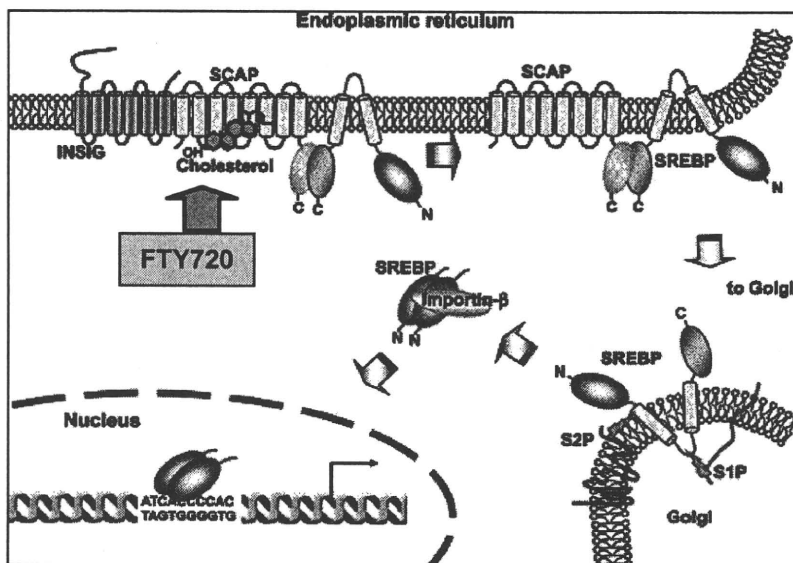


図 3. FTY720 によるコレステロールホメオステータシスの攪乱。

ER上に存在する sterol regulatory element binding transcription factor 2(SREBP2)は細胞内コレステロールの低下に反応して、SREBP cleavage-activating protein(SCAP)から遊離して Golgi に移行し、site 1 protease(S1P), site 2 protease(S2P)による2段階切断を受けて活性化し、2量体は核へ移行して転写因子としてコレステロール産生系コンポーネント遺伝子群の転写を促進する。FTY720 は SCAP の sterol-sensing domain(SSD)に結合して、cholesterol depletion の signal を伝達する可能性がある。SREBP が活性化されると、標的遺伝子 caspase-7 が増加して、アポトーシスが誘導される(Sato R. FEBS J 276: 622-627, 2009 より引用改変)。

### Ⅲ.研究成果の刊行に関する一覧表

平成22年度研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名・出版地	頁	出版年
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.	Gramm U	Molecular Basis of Multiple Sclerosis. The Immune System Series "Results and Problems in Cell Differentiation"	Springer-Verlag, Heidelberg	127-147	2010
Kazuya Iwabuchi, Yoshiki Yanagawa, Keita Minami, Kazuomi Mizuuchi, Masanori Maeda, Hisako Ogura, Masashi Satoh, Fumie Hayashi, Yoshikuni Obata, Noriko Ikeda, Daiju Iwata, Noriyuki Hirata, Chikako Iwabuchi, Kazunori Onoe	Differential Enhancement of T Helper Type 1 (Th1)/Th2 Cytokine Production by Natural Killer T Cells Through Negative Feedback Regulation with Cytokine-conditioned Dendritic Cells	Masashi Emoto	Current Immunology Review	Bentham Science Publishers, Ltd.	78-87	2010
中林哲夫	向精神薬の治験の進め方 - 抗うつ薬の臨床試験を中心に -	樋口 輝彦・不安・抑うつ臨床研究会	向精神薬開発の現状と課題	日本評論社, 東京	41-52	2010

平成22年度研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Chang, Y-J., H. Y. Kim, L. A. Albacker, H.-H. Lee, N. Baumgarth, S. Akira, P. Savage, S. Endo, T. Yamamura, J. Maaskant, N. Kitano, A. Singh, A. Bhatti, G. Besra, P. van den Elzen, B. Appelmeik, R. W. Franck, G. Chen, R. DeKruyff, M. Shimamura, P. Illarionov, and D. Umetsu	Influenza A infection in suckling mice expands a population of NKT cells that protects mice as adults from airway hyperreactivity	J. Clin. Invest.	121	57-69	2010
Sumiyoshi K, Obayashi S, Tabunoki H, Arima K, <u>Satoh J.</u>	Protein microarray analysis identifies cyclic nucleotide phosphodiesterase as an interactor of Nogo-A.	Neuropathology	30(1)	7-14	2010
<u>Satoh J</u>	Bioinformatics approach to identifying molecular biomarkers and networks in multiple sclerosis.	Clinical and Experimental Neuroimmunology	1(3)	127-140	2010
Ohmura K, Ishimori N, Ohmura Y, Tokuhara S, Nozawa A, Hori S, Andoh Y, Fujii S, Iwabuchi K, Onoe K, and Tsutsui H	Natural killer T cells are involved in adipose tissue inflammation and glucose intolerance in diet-induced obese mice	Arterioscler Thromb Vasc Biol	30	193-9	2010
Saitoh Y, Ogawa M, Naito Y, Komatsuzaki Y, Tagaya H, Arima K, Tamaoka A, Kitamoto T, Murata M.	Discordant clinicopathologic phenotypes in a Japanese kindred of fatal familial insomnia.	Neurology	174	86-89	2010
Noto D, Takahashi K, <u>Miyake S</u> , Yamada M	In vitro differentiation of lineage-negative bone marrow cells into microglia-like cells.	Eur J Neurosci	31	1155-1163	2010
Adachi Y, <u>Sato N</u> , Okamoto T, et al.	Brachial and lumbar plexuses in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: MRI assessment including apparent diffusion coefficient.	Neuroradiology	53(1)	3-11	2011
Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, <u>Miyake S</u> , Okamoto T, <u>Ogawa M</u> , 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	