

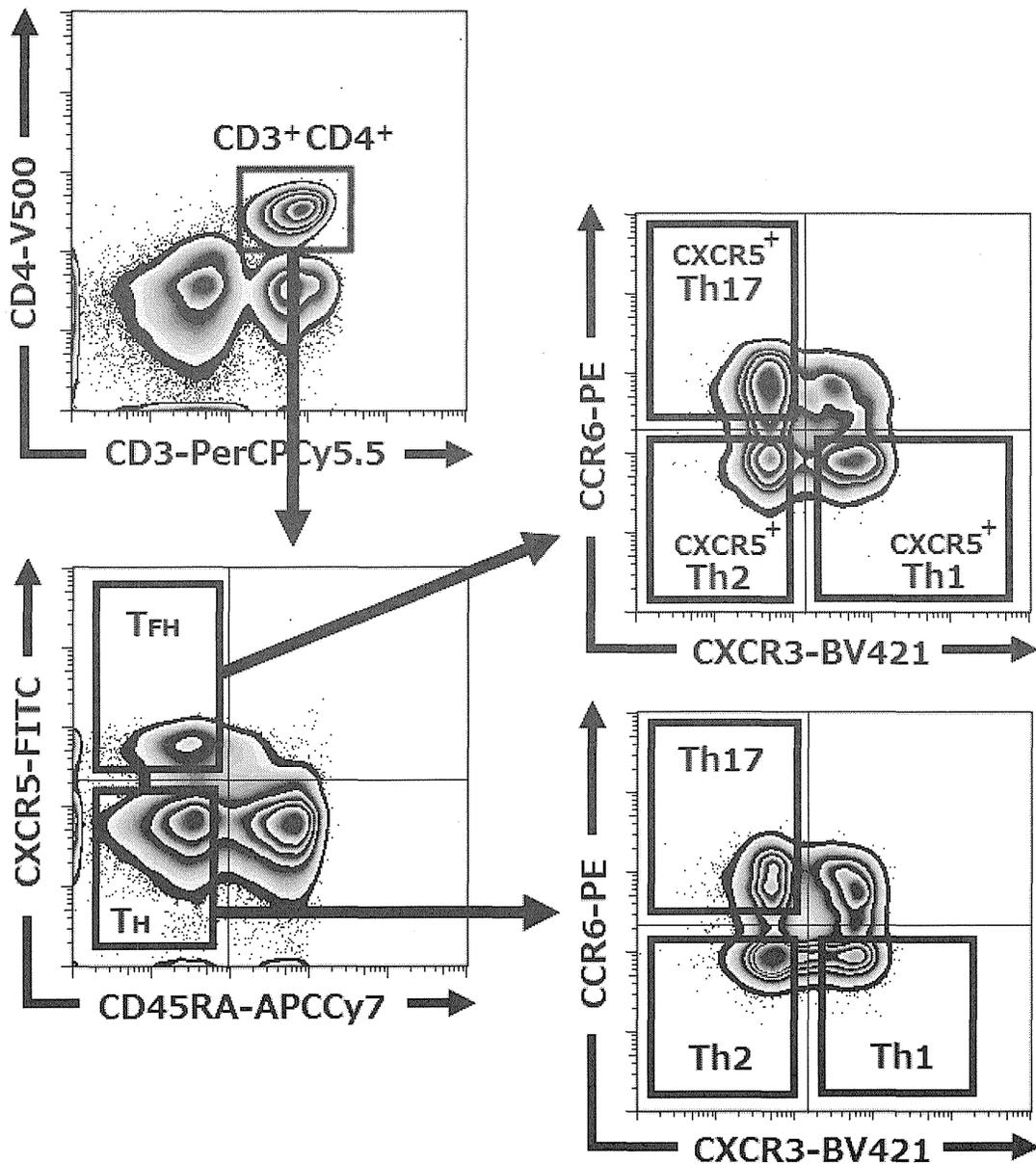
□ 一般的な解析パネル

- ・ 使用機器：ベックマン・コールター社 MoFlo XDP (8 color)
- ・ Human Immunology Project の提言 [Nature Reviews Immunology, 2012 (12):191-200] を基礎とした
- ・ カッコ内はクローン名
- ・ BV421= Brilliant violet 421, V500= Violet 500

色素	Th cell パネル	Treg cell パネル	B cell パネル	DC, Monocyte, NK cell パネル
FITC	CXCR5 (RF8B2)	CD25 (BC96)	CD27 (O323)	CD14 (M5E2)
PE	CCR6 (11A9)	-	CD24 (ML5)	HLA-DR (L243)
PerCP-Cy5.5	CD3 (UCHT1)	CD4 (OKT4)	CD3 (UCHT1)	CD16 (3G8)
PE-Cy7	CD25 (BC96)	CD127 (eBioRDR5)	CD38 (HIT2)	CD3 (UCHT1)
APC	-	CCR7 (G043H7)	-	CD123 (AC145)
APC-Cy7	CD45RA (HI100)	CD45RA (HI100)	CD19 (HIB19)	CD56 (HCD56)
BV421	CXCR3 (1C6/CXCR3)	-	IgD (IA6-2)	CD11c (B-ly6)
V500	CD4 (RPA-T4)	-	-	CD19 (HIB19)

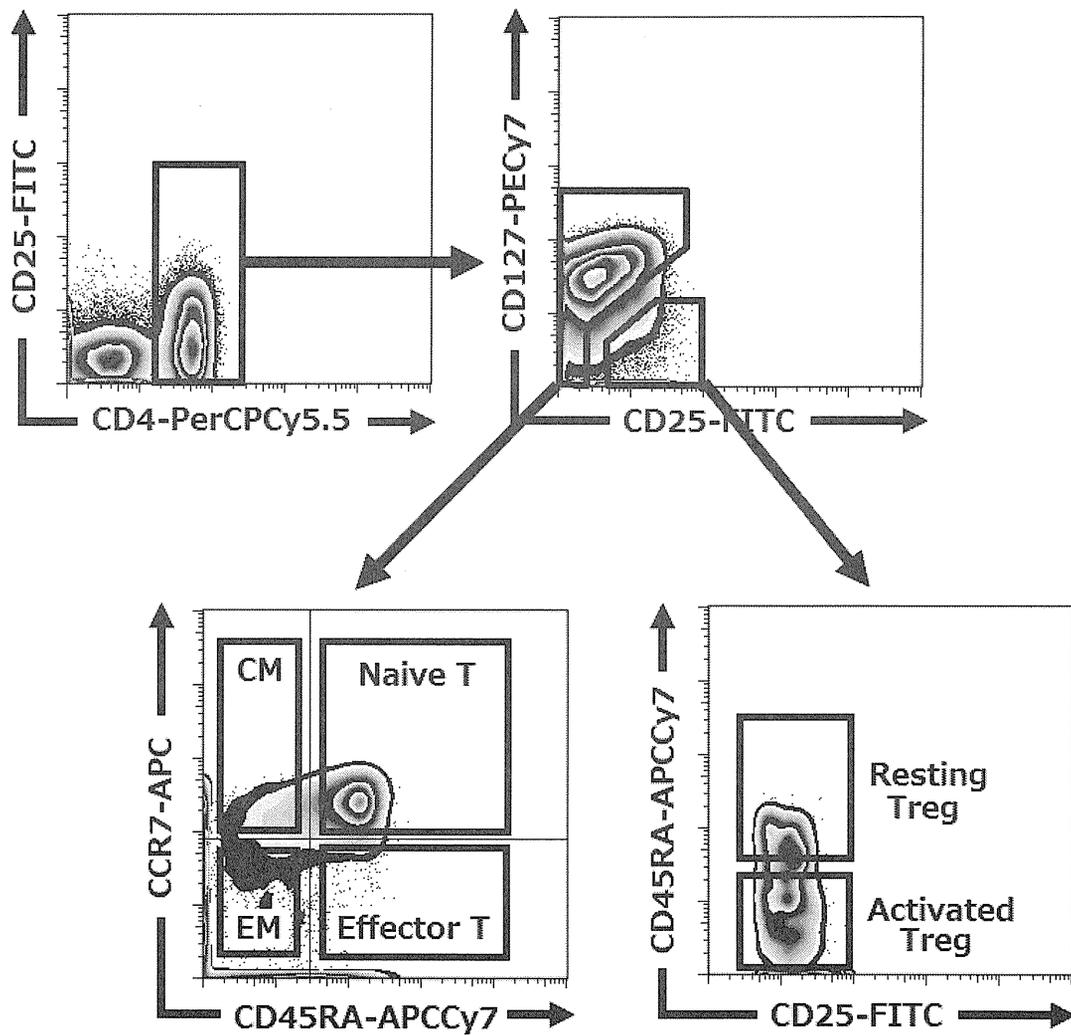
● Th cell パネル展開

- ・ リンパ球領域を展開し、CD3+CD4+細胞より CXCR5 陽性細胞領域と CXCR5⁻CD45RA⁻領域に分ける。両領域を CCR6/CXCR3 で展開し、Th17、Th1、Th2 細胞群に分ける。
- ・ 参考文献：Immunity 2012;34(1):108-21



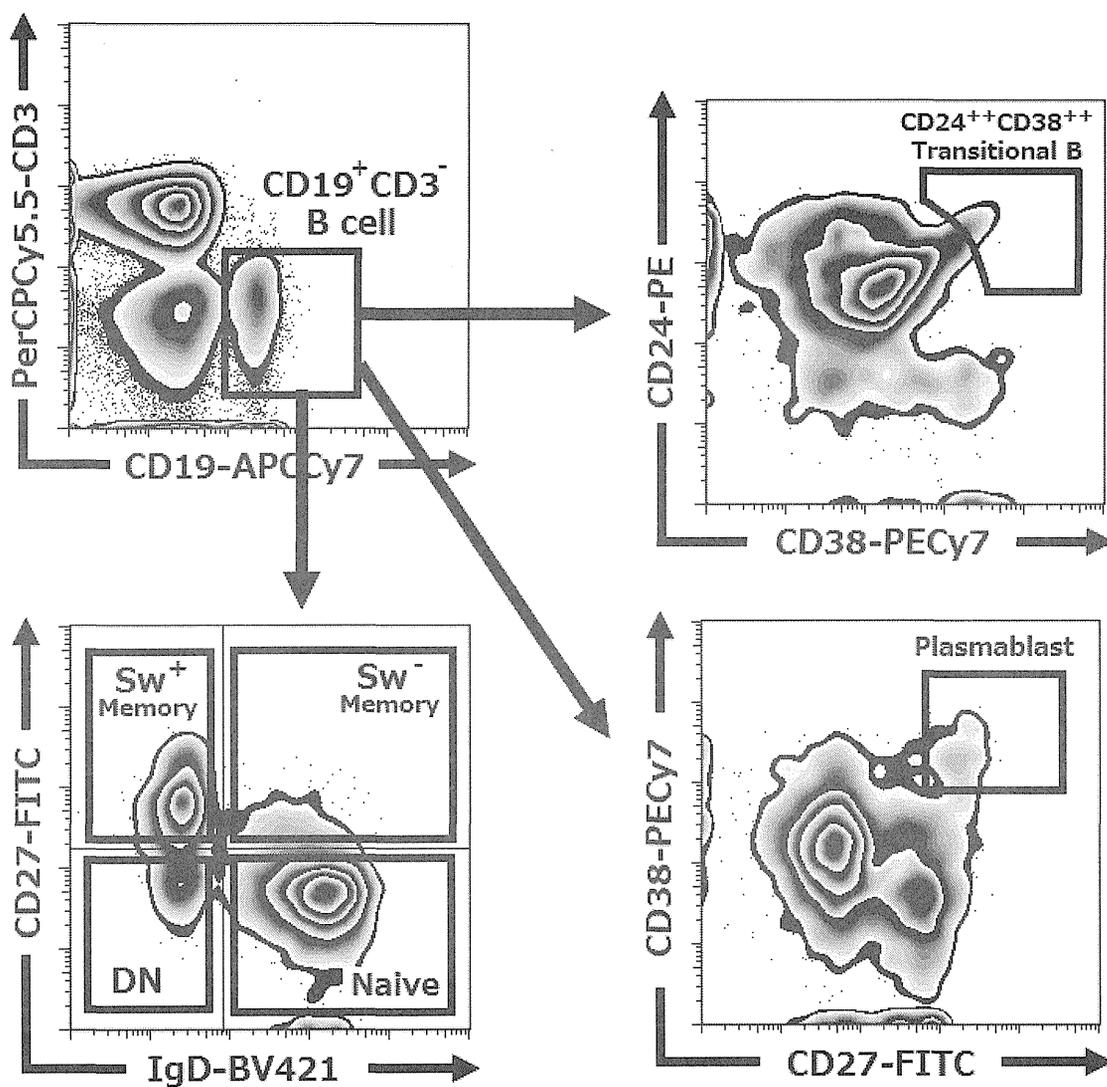
● Treg cell パネル展開

- ・ リンパ球領域を展開し、CD4⁺細胞より CD25⁺CD127^{~dim} の Regulatory T cell 領域とその他に分ける。Regulatory T cell 領域は、CD45RA の有無で Resting Treg と Activated Treg に分ける。Treg 以外の領域は、CCR7/CD45RA 展開により、Naïve T cell、Central memory T cell、Effector memory T cell、Effector T cell に分ける。
- ・ 参考文献：Immunity 2009; 30(6):899-911, J Exp Med. 2006;203(7):1701-11.



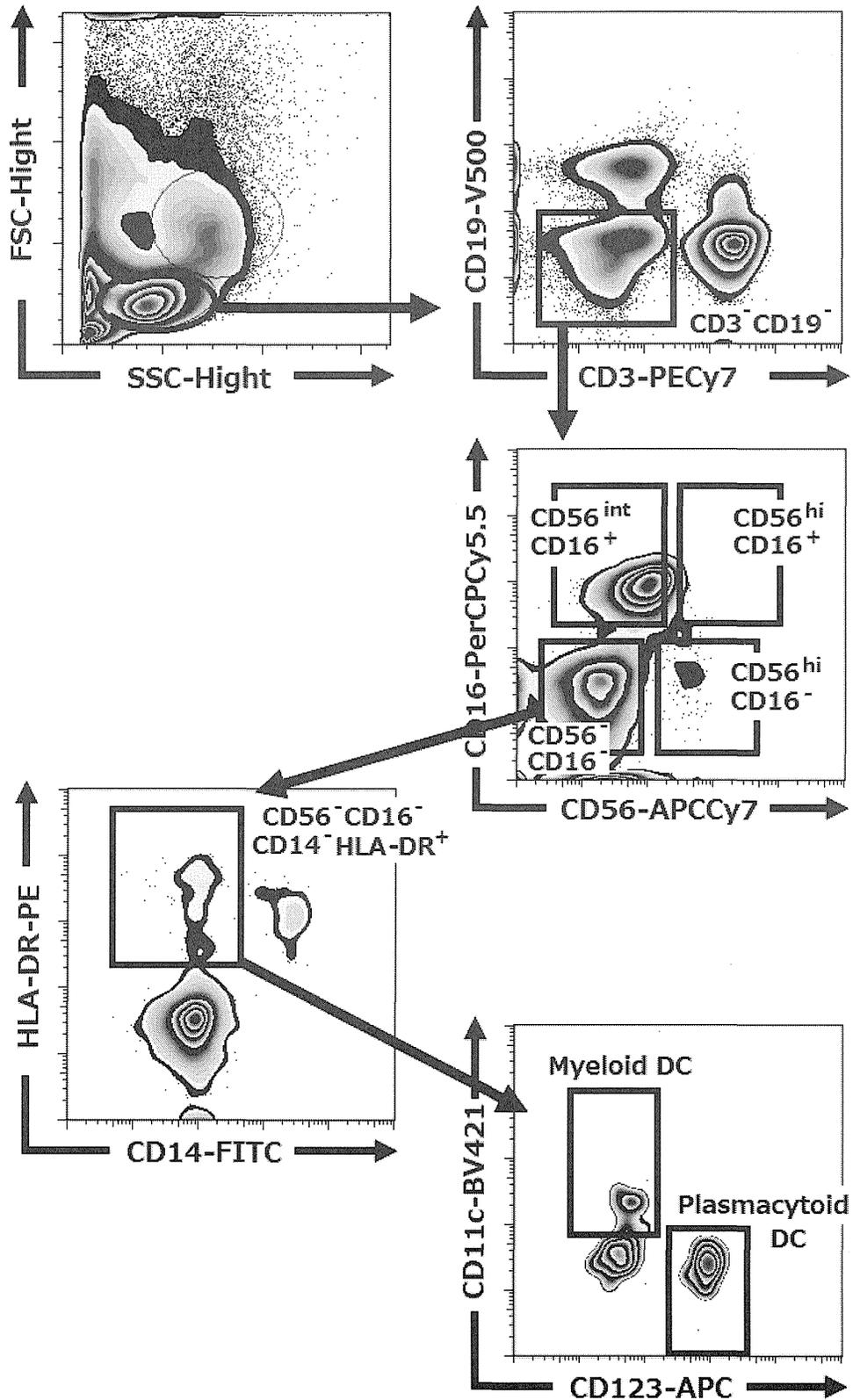
● B cell パネル展開

- ・ リンパ球領域から、CD19⁺CD3⁻領域を展開し、各 B 細胞群を展開する。



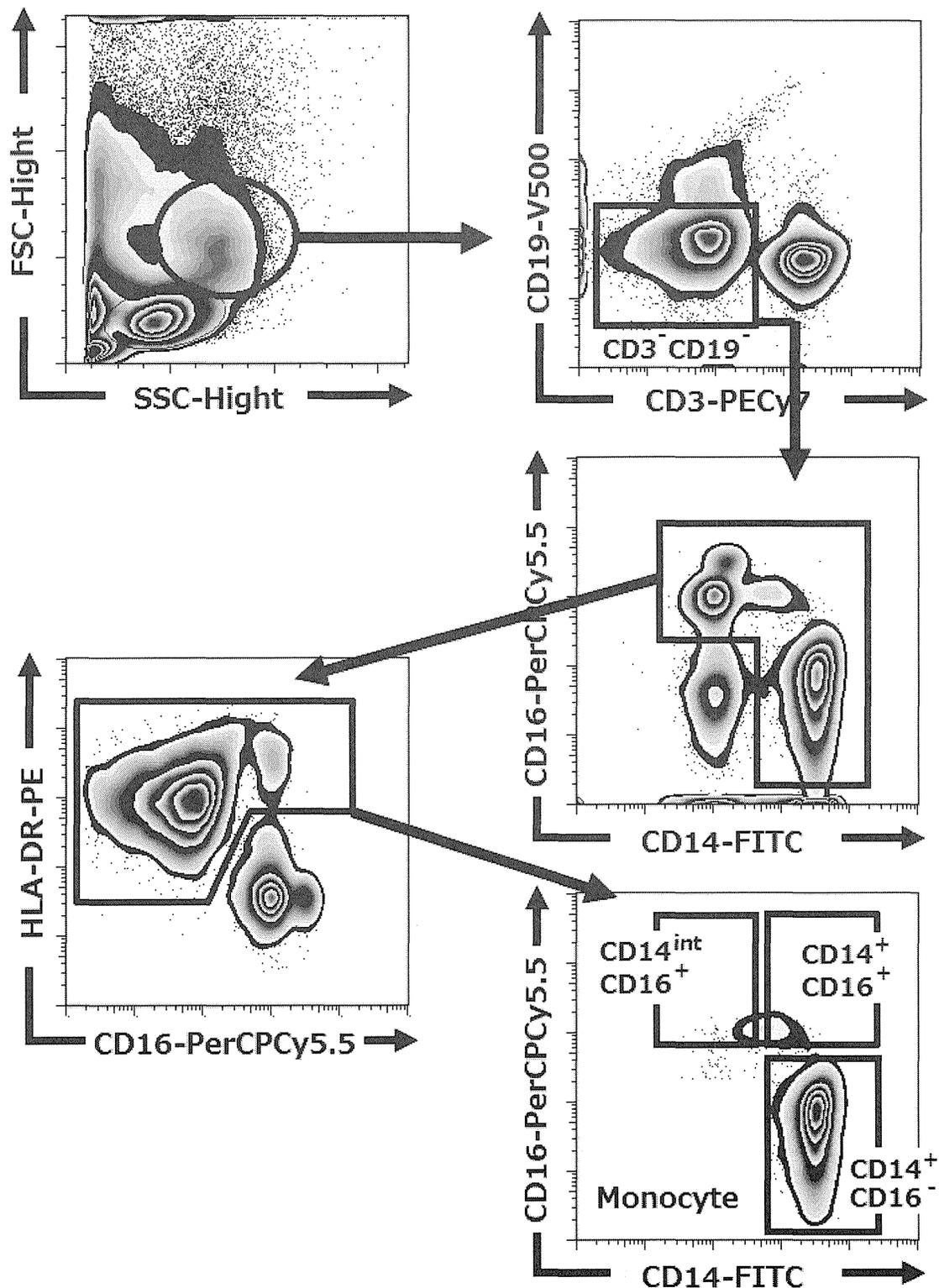
● DC, Monocyte, NK cell パネル展開 [NK cell, DC]

- ・ FSC/SSC でリンパ球領域をゲーティングし、NK cell、Dendritic cell を展開する



● DC, Monocyte, NK cell パネル展開 [Monocyte]

- ・ FSC/SSC で Monocyte 領域をゲーティングし、CD3⁻CD19⁻領域から CD14⁻CD16⁻細胞を除いた後、HLA-DR 陽性細胞をゲーティングし、CD14⁺CD16⁻, CD14⁺CD16⁺, CD14^{int}CD16⁺ の 3 群の Monocyte を展開する。



□ 詳細な解析パネル ; PBMC, DC, B cell 解析パネル

- ・ 使用機器 : BD 社 LSRFortessa (10 color)
- ・ カッコ内はクローン名
- ・ PC5= R-phycoerythrin-Cyanine 5, Cy5.5= PerCP-Cy5.5, AF700= Alexa Fluor 700, VioB= VioBlue, VioG= VioGreen

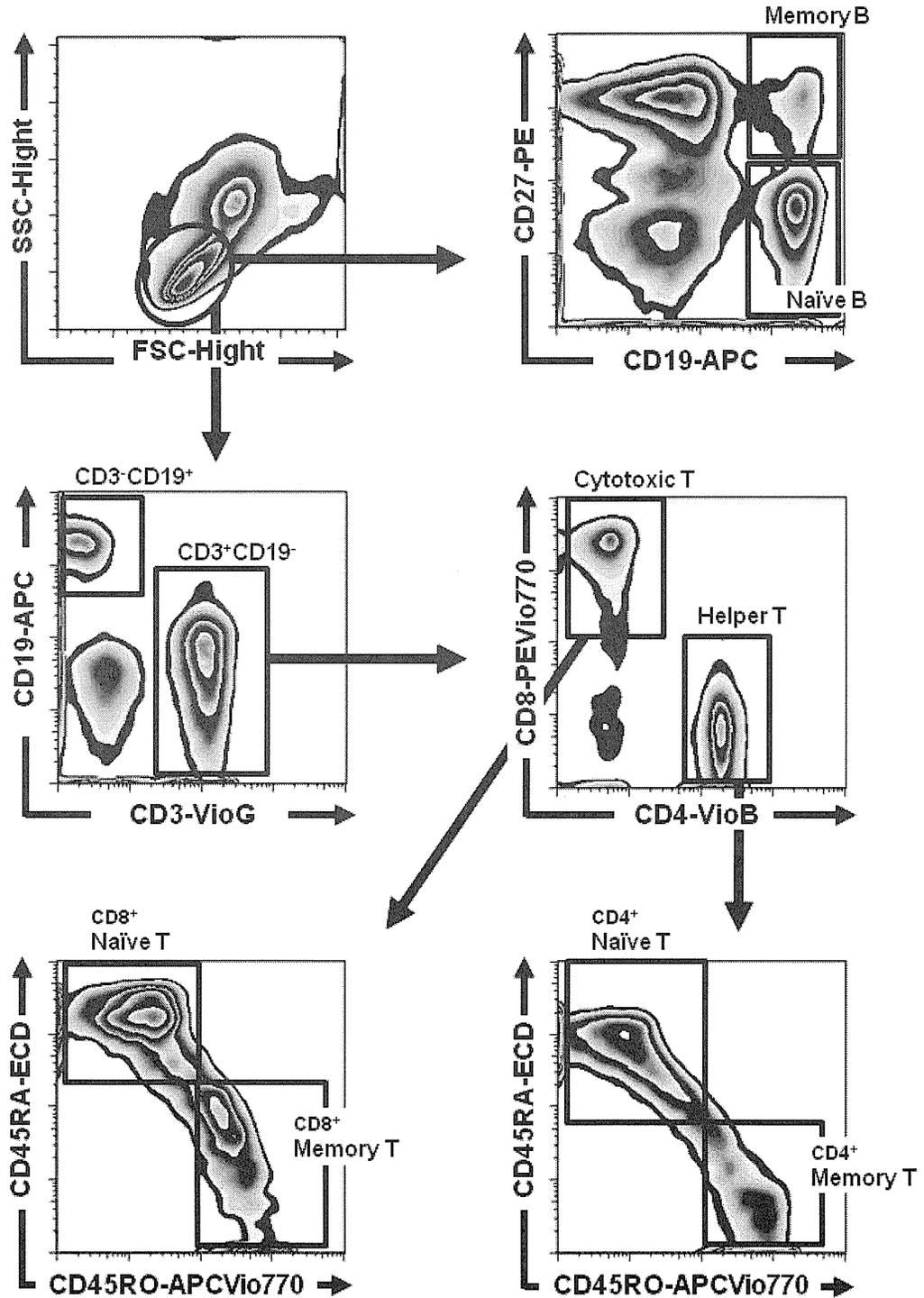
色素	PBMC パネル T/ B/ NK/ Mono	DC パネル pDC/ mDC	B1 パネル Immature/ Transitional/ B1	B3 パネル memory/ IgGAM
FITC	CD16 (3G8)	Lineage cocktail 1 (BD #340546)	CD38 (IB6)	IgD (IA6-2)
PE	CD27 (1A4CD27)	CD123 (AC145)	CD24 (32D12)	IgA (IS11-8E10)
ECD	CD45RA (2H4LDH11LDB9)	HLA-DR (Immu-357)	-	-
PC5/Cy5.5	CD56	CD11c (BU15)	IgM (G20-127)	IgM (G20-127)
PE-Cy7	CD8 (BW135/80)	CD83 (HB15e)	CD10 (ALB1)	CD27 (1A4CD27)
APC	CD19 (LT19)	CD303 (AC144)	CD21 (B-ly4)	IgG (IS11-3B2.2.3)
AF-700	CD14 (M5E2)	-	CD5 (UCHT2)	-
APC-Vio770	CD45RO (UCHL1)	-	-	-
VioB	CD4 (VIT4)	CD45 (5B1)	CD19 (LT19)	CD19 (LT19)
VioG	CD3 (BW264/56)	-	CD20 (LT20)	CD20 (LT20)

□ 詳細な解析パネル ; T cell 解析パネル

色素	T1 パネル NM/NKT	T2 パネル Treg/DN	T3 パネル Th
FITC	V α 24 (C15)	TCR γ δ (11F2)	CD38 (IB6)
PE	V β 11 (C21)	TCR α β (BW242/412)	CCR6 (11A9)
ECD	CD45RA (2H4LDH11LDB9)	CD8	CD8
PC5/Cy5.5	CD62L (DREG56)	CD25 (B1.49.9)	CXCR5 (TG2/CXCR5)
PE-Cy7	CD8 (BW135/80)	CCR4 (TG6/CCR4)	CD161
APC	CD31 (AC128)	CD127 (MB15-18C9)	CXCR3 (1C6/CXCR3)
AF-700	CCR7 (150503)	-	HLA-DR
APC-Vio770	CD45RO (UCHL1)	-	CD45RO (UCHL1)
VioB	CD4 (VIT4)	CD4 (VIT4)	CD4 (VIT4)
VioG	CD3 (BW264/56)	CD3 (BW264/56)	CD3 (BW264/56)

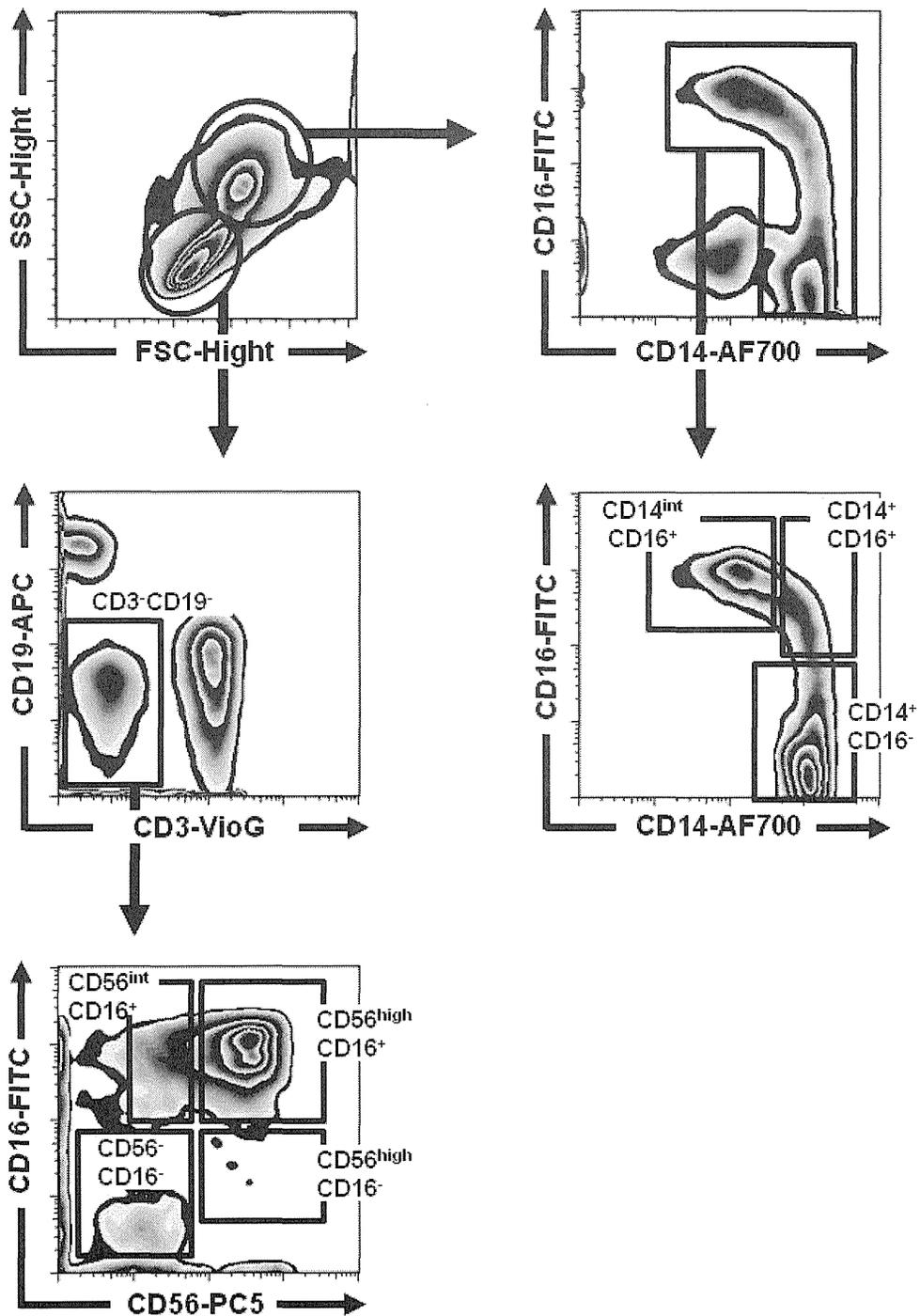
● PBMC パネル展開 [T cell, B cell]

- リンパ球領域から CD3⁺CD19⁻領域を展開し、CD4⁺T と CD8⁺T に分ける。さらに両領域を CD45RA/CD45RO で展開し、Naïve T, Memory T に分ける。また、リンパ球領域を CD19/CD27 で展開し、Naïve B, Memory B に分ける。



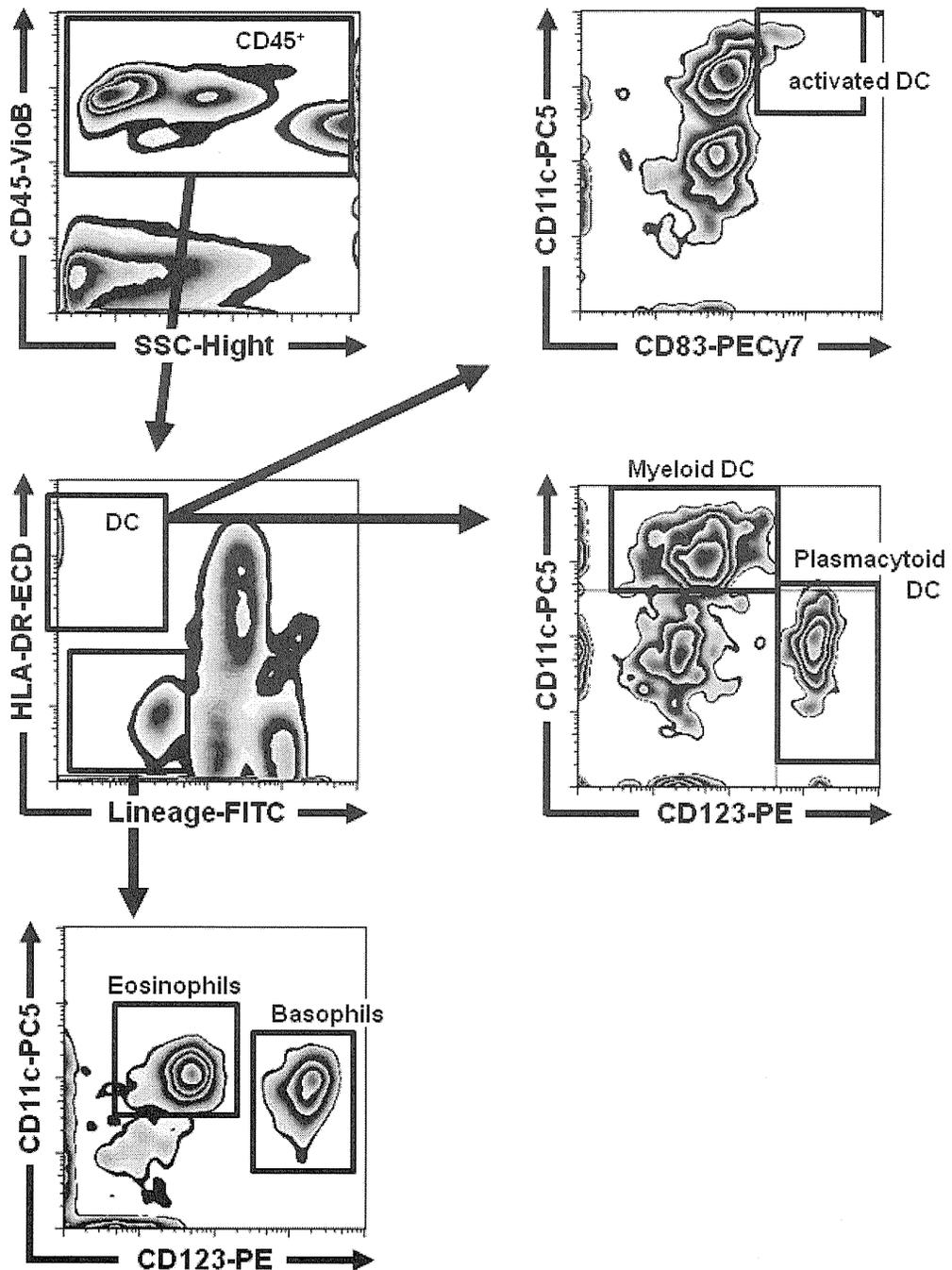
● PBMC パネル展開 [NK cell, Monocyte]

- ・ リンパ球領域から CD3⁺CD19⁻領域を展開し、CD56/CD16により NK cell を展開する。
- ・ また、FSC/SSC で Monocyte 領域をゲーティングし、CD14⁻CD16⁻細胞を除いた後、CD14⁺CD16⁻, CD14⁺CD16⁺, CD14^{int}CD16⁺ の 3 群の Monocyte を展開する。



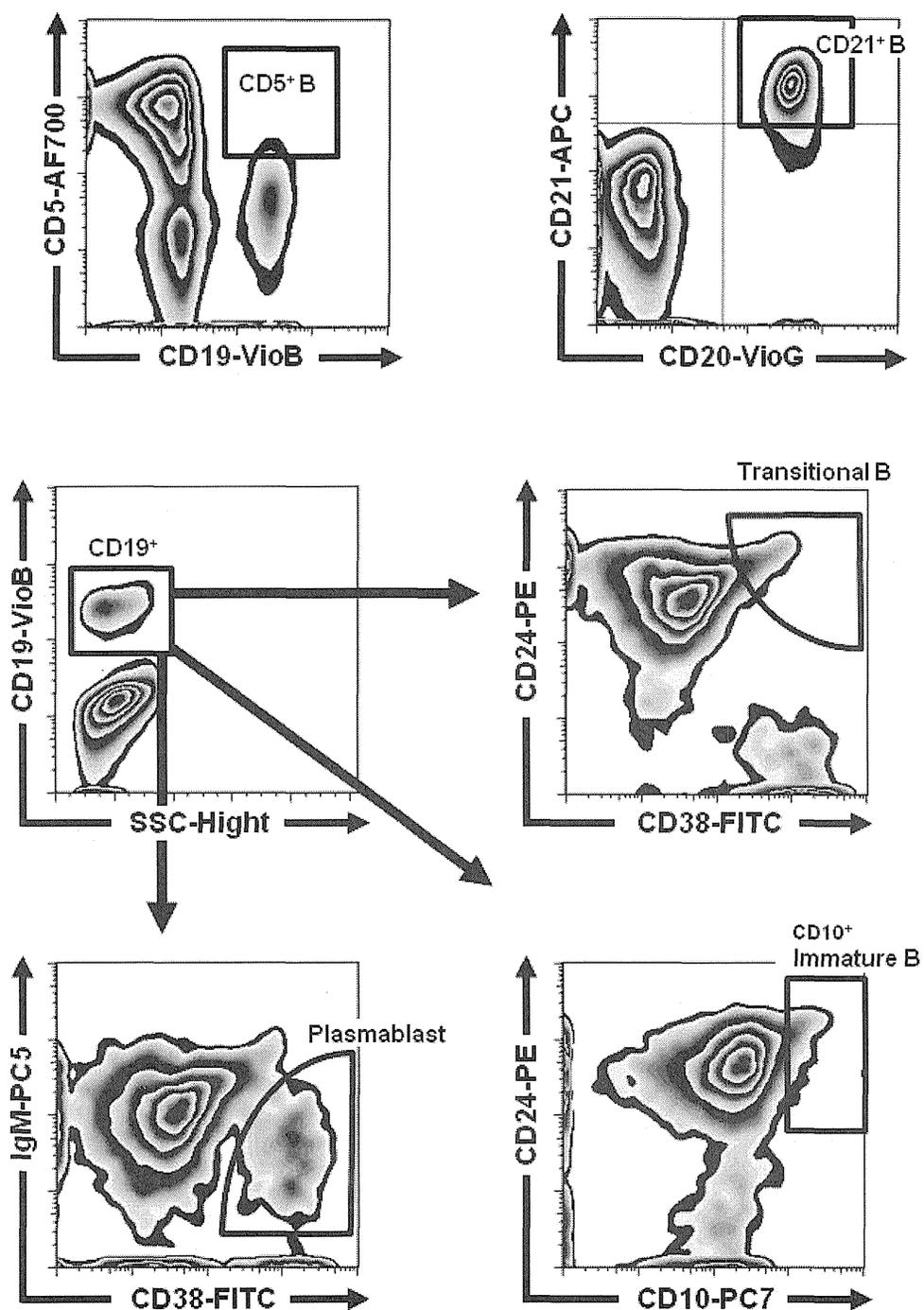
● DC パネル展開

- ・ CD45⁺領域から Lineage⁻HLA-DR⁺により Dendritic cell を展開する。
- ・ さらに CD123/CD11c および CD83/CD11c で展開し、Myeloid DC, Plasmacytoid DC, activated DC の各分画に分ける。また、Lineage⁻HLA-DR⁺を展開し、さらに CD123/CD11c により Eosinophil, Basophil に分ける。



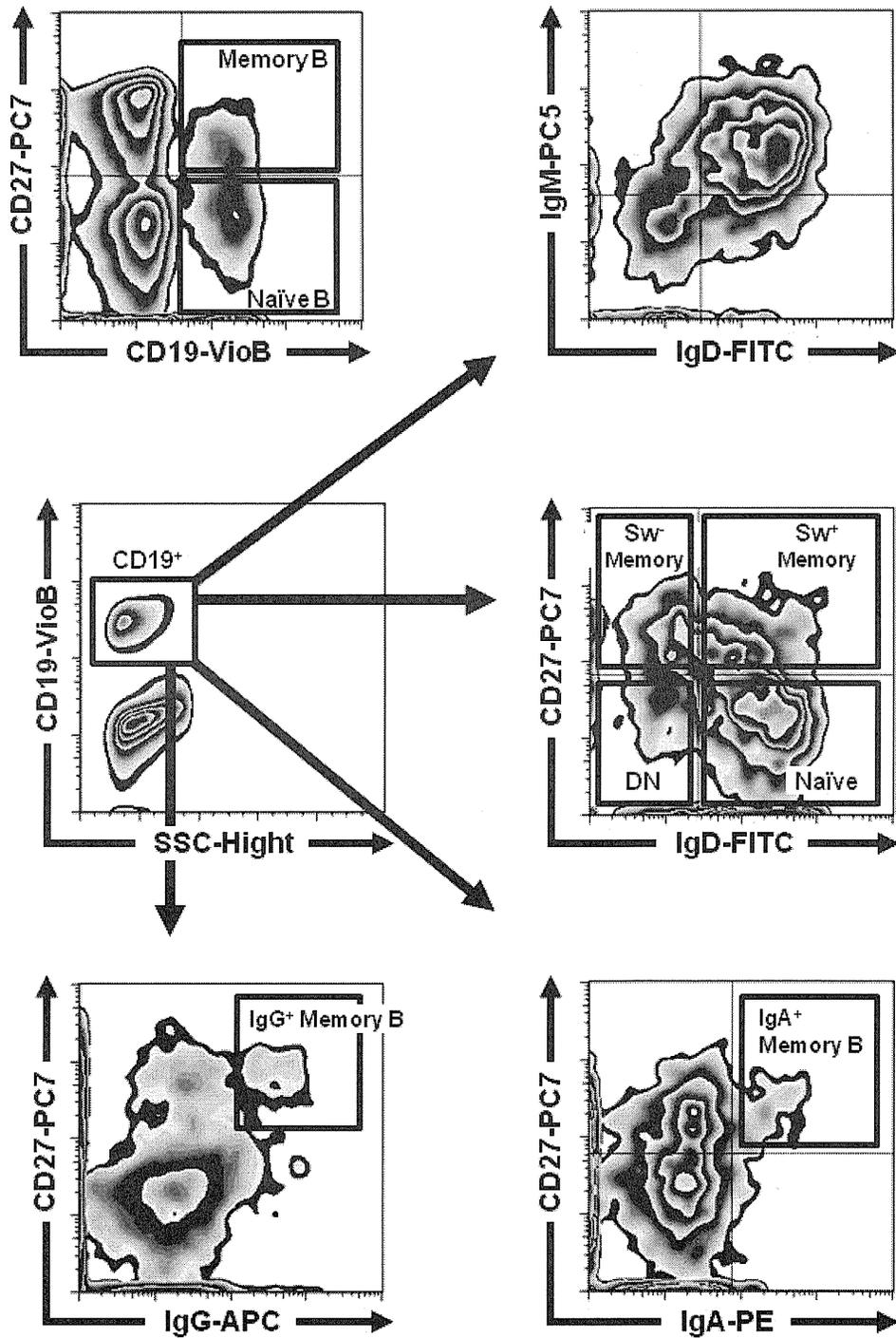
● B1 パネル展開

- リンパ球領域から、CD19⁺領域を展開し、各 B 細胞分画を展開する。



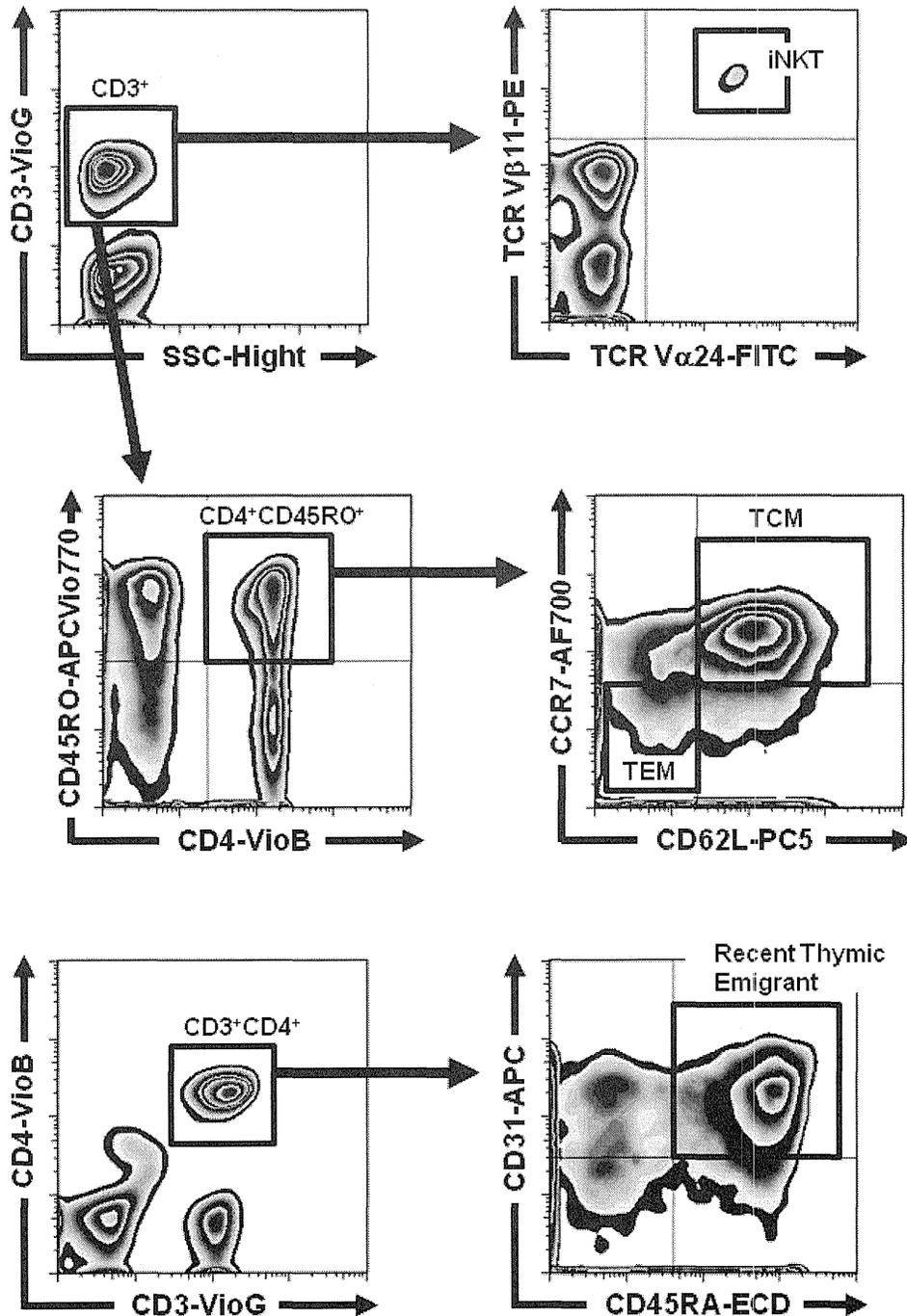
● B3 パネル展開

- リンパ球領域から、CD19⁺領域を展開し、各 B 細胞分画を展開する。



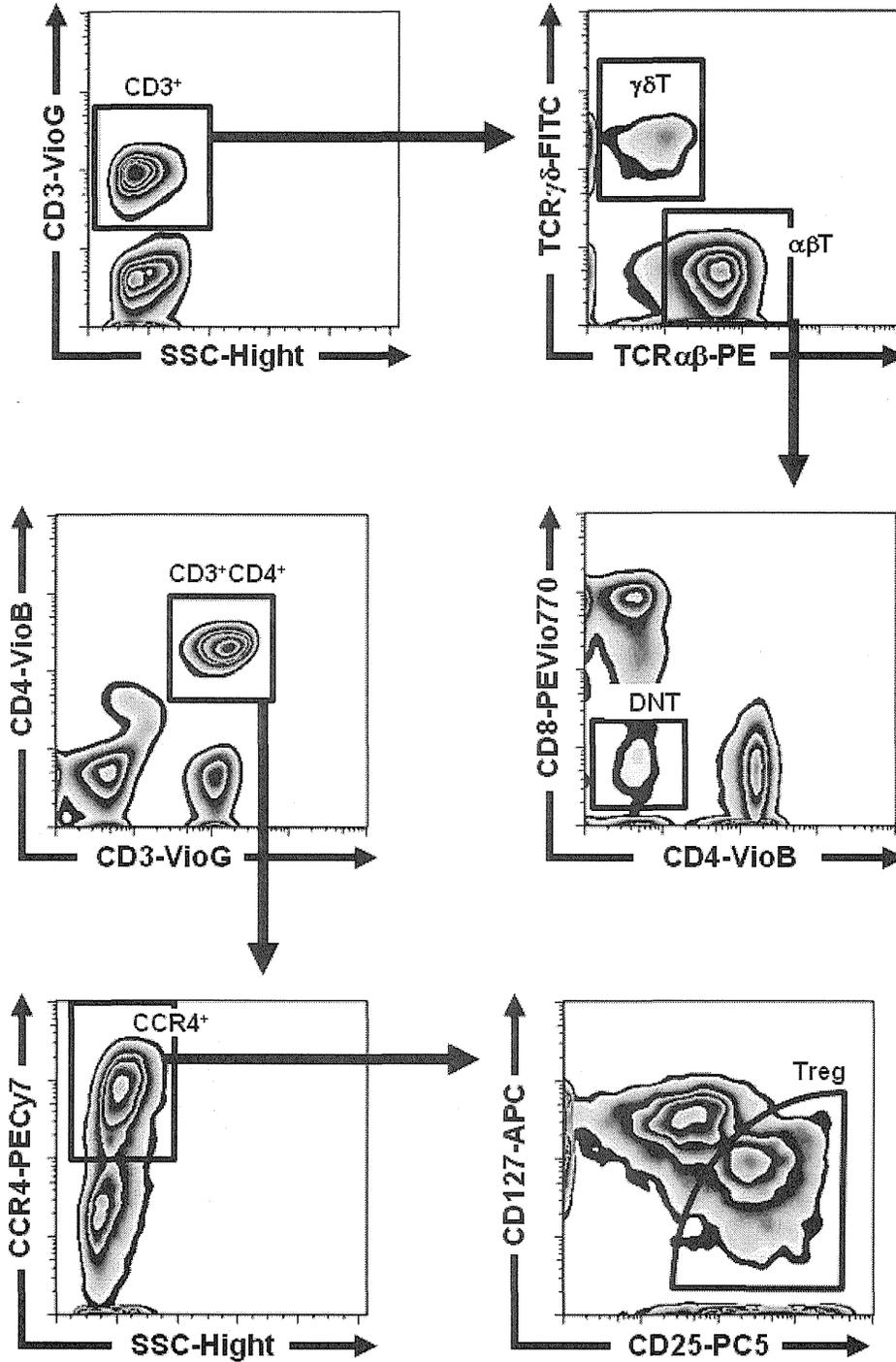
● T1 パネル展開

- リンパ球領域から、CD3⁺領域を展開し、各 T 細胞分画を展開する。また、CD3⁺CD4⁺領域から CD31⁺CD45RA⁺の Recent Thymic Emigrant を展開する。



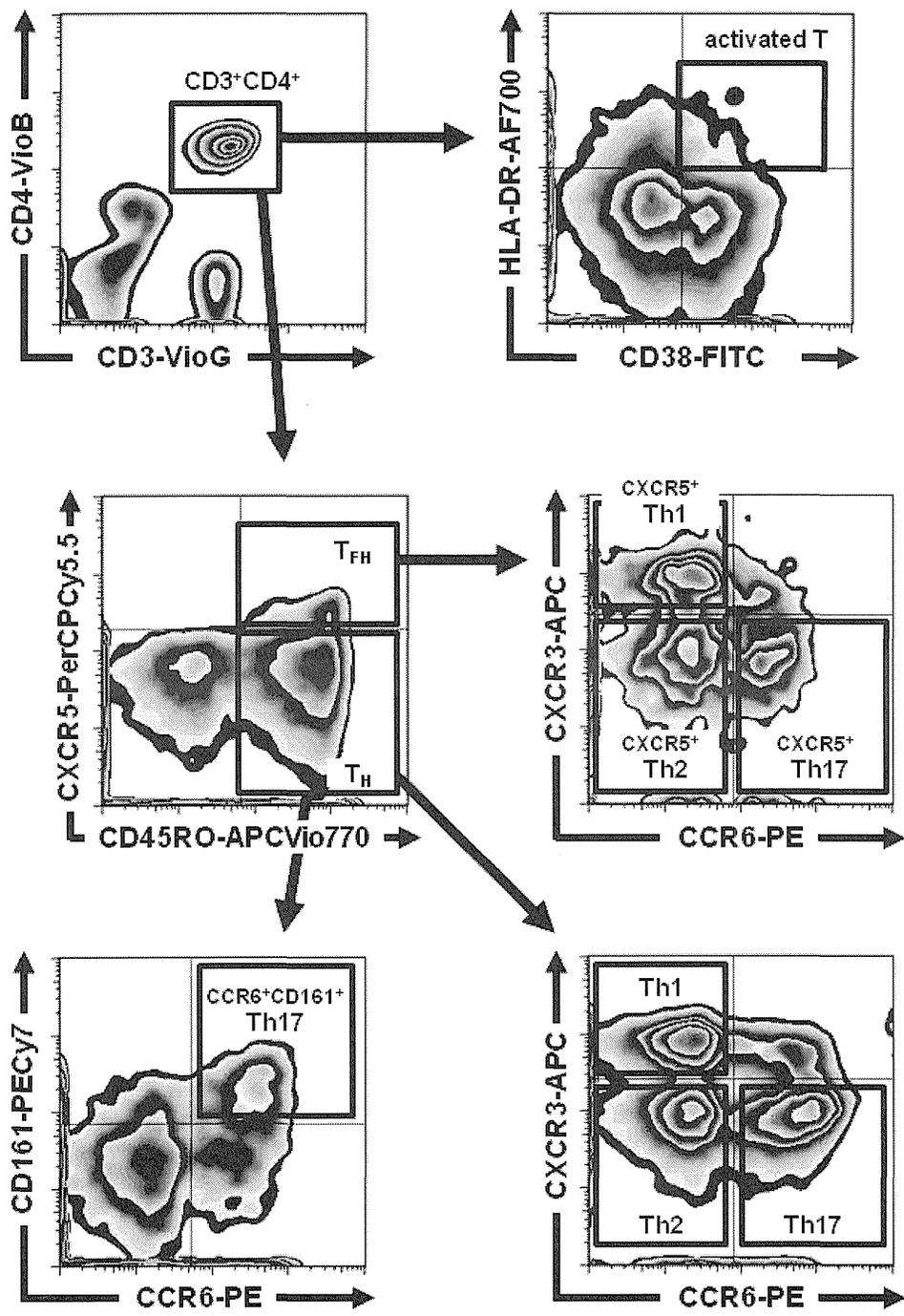
● T2 パネル展開

- リンパ球領域から、CD3⁺領域を展開し、各 T 細胞分画を展開する。また、CD3⁺CD4⁺領域から CCR4⁺CD25⁺CD127^{~dim} の Regulatory T cell 領域を展開する。



● T3 パネル展開

- ・ リンパ球領域を展開し、CD3⁺CD4⁺細胞より CXCR5 陽性細胞領域と CXCR5⁺CD45RO⁺領域に分ける。両領域を CCR6/CXCR3 で展開し、Th1、Th2、Th17 細胞群に分ける。
- ・ また、CXCR5⁺CD45RO⁺領域を展開し、CCR6⁺CD161⁺により Th17 細胞を確認することも可能である。



IV. 刊行に関する一覽

2013年度 主要論文

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	年
山本一彦	Yamamoto K, Takeuchi T, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, Eguchi K, Watanabe A, Origasa H, Shoji T, Sakamaki Y, van der Heijde D, Miyasaka N, Koike T.	Efficacy and safety of certolizumab pegol plus methotrexate in Japanese rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate : the J-RAPID randomized, placebo-controlled trial.	Mod Rheumatol	Epub ahead of print		2013
	Okada Y, et al(+94人), Yamamoto K, and Plenge RM.	Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.	Nature	506	376-381	2014
	Nagafuchi Y, Sumitomo S, Soroida Y, Kanzaki T, Iwasaki Y, Michishita K, Iwai T, Ikeda H, Fujio K, Yamamoto K.	The power Doppler twinkling artefact associated with periarticular calcification induced by intra-articular corticosteroid injection in patients with rheumatoid arthritis.	Ann Rheum Dis	72	1267-9	2013
	Shimane K, Kochi Y, Suzuki A, Okada Y, Ishii T, Horita T, Saito K, Okamoto A, Nishimoto N, Myouzen K, Kubo M, Hirakata M, Sumida T, Takasaki Y, Yamada R, Nakamura Y, Kamatani N, Yamamoto K.	An association analysis of HLA-DRB1 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in a Japanese population: effects of *09:01 allele on disease phenotypes.	Rheumatology (Oxford)	52	1172-82	2013
	Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, Yanai A, Sumitomo S, Shoda H, Tamura T, Yoshida H, Charnay P, Yamamoto K.	Egr-2 transcription factor is required for Blimp-1-mediated IL-10 production in IL-27-stimulated CD4+ T cells.	Eur J Immunol	43	1063-73	2013

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	年
保田晋助	Kurita T, Yasuda S, Oba K, Odani T, Kono M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Amenguak O, Horita T, Atsumi T	The effect of tacrolimus in patients with interstitial lung diseases complicated with polymyositis or dermatomyositis	Rheumatology	in press		2014
	Oku K, Amengual O, Zigon P, Horita T, Yasuda S, Atsumi T	Essential role of p38 mitogen-activated protein kinase pathway in tissue factor gene expression mediated by the phosphatidylserine-dependent antiprothrombin antibody	Rheumatology	52	1775-1784	2013
	3. Kato M, Atsumi T, Oku K, Amengual O, Nakagawa H, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Yasuda S, Koike T	The involvement of CD36 in monocyte activation by antiphospholipid antibodies	Lupus	22	761-771	2013
	Yasuda S	Disseminated intravascular coagulation in the presence of antiphospholipid antibodies: differential diagnosis from catastrophic or microangiopathic antiphospholipid syndrome	Intern Med	52	761-771	2013
	Jin H, Arase N, Hirayasu K, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka S, Ebina K, Shi K, Toyama-Sorimachi N, Yasuda S, Horita T, Hiwa R, Takasugi K, Ohmura K, Yoshikawa H, Saito T, Atsumi T, Sasazuki T, Katayama I, Lanier L, Arase H	Autotantibodies to IgG/HLA-DR complex are associated with rheumatoid arthritis susceptibility	PNAS	in press		2013

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
松本功	Umeda N, <u>Matsumoto I</u> , Ito I, Kawasaki A, Tanaka Y, Inoue A, Tanaka Y, Tsuboi H, Suzuki T, Hayashi T, Ito S, Tsuchiya N, Sumida T.	Anti-citrullinated glucose-6-phosphate isomerase peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis are associated with HLA-DRB1 shared epitope alleles and disease activity.	Clin. Exp. Immunol	172	44-53	2013
	Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, Shimada K, Masui T, Ikenaka T, Hashimoto A, Okazaki Y, Takaoka H, Futami H, Komiya A, Kondo Y, Ito S, Hayashi T, <u>Matsumoto I</u> , Kusaoi M, Takasaki Y, Nagai T, Hirohata S, Setoguchi K, Suda A, Nagaoka S, Kono H, Okamoto A, Chiba N, Suematsu E, Fukui N, Hashimoto H, Sumida T, Ono M, Tsuchiya N, Tohma S:	Association of a Single Nucleotide Polymorphism in the SH2D1A Intronic Region with Systemic Lupus Erythematosus.	Lupus	22	497-503	2013
	Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umehara H, Kawakami A, Nakamura H, Sano H, Tsubota K, Ogawa Y, Takamura E, Saito I, Inoue H, Nakamura S, Moriyama M, Takeuchi T, Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, <u>Matsumoto I</u> , Sumida T.	Validation of different sets of criteria for the diagnosis of Sjogren's syndrome in Japanese patients.	Mod. Rheumatol	23	219-225	2013
	Yokosawa M, Tsuboi H, Nasu K, Hagiya C, Hagiwara S, Ogishima H, Hirota T, Horikoshi M, Kondo Y, Sugihara M, Suzuki T, Minami M, Bukawa H, <u>Matsumoto I</u> , Sumida T.	Usefulness of MR imaging of the parotid glands in patients with Sjogren's syndrome.	Rheumatology	in press		
	Hagiya C, Tsuboi H, Yokosawa M, Hagiwara S, Takai C, Hirota T, Asashima H, Miki H, Umeda N, Horikoshi M, Kondo Y, Sugihara M, Ogishima H, Suzuki T, Hiraoka T, Kaji Y, Matsumoto I, Ohshika T, Sumida T.	Clinicopathological features of IgG4-related disease complicated with orbital involvement.	Mod Rheumatol	in press		

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
小竹茂	<u>Kotake S</u> , Yago T, Kawamoto M, Nanke Y.	A novel peptide from T-cell leukemia translocation-associated gene (TCTA) protein inhibits proliferation of a small-cell lung carcinoma. vol. 4, 44-46, 2013.	Journal of Cancer Therapy,	4	44-46	2013
	<u>Kotake S</u> , Yago T, Kawamoto M, Nanke Y.	Voltage-dependent anion channels (VDACs, porin) expressed in the plasma membrane regulate the differentiation and function of human osteoclasts.	Cell Biol Int.	37	65-77	2013
	Kobashigawa T, Nanke Y, Takazoe M, Iihara K, Yamanaka H, <u>Kotake S</u> .	Case of Human Leukocyte Antigen (HLA) B27-Positive Intestinal Behçet's Disease with Crohn's Disease-Like Anal Fistulas.	Clinical Medicine Insights: Case Reports	in press		
	<u>Kotake S</u> , Nanke Y.	Effect of TNF-alpha on osteoblastogenesis from mesenchymal stem cells.	Biochim Biophys Acta	1840	1209-1213	2013
	<u>小竹 茂</u> 、南家由紀	腸炎性関節炎	臨床消化器内科	28	585-591	2013

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	年
桑名正隆	Masuda A, Yasuoka H, Satoh T, Okazaki Y, Yamaguchi Y, <u>Kuwana M.</u>	Versican is upregulated in circulating monocytes in patients with systemic sclerosis and amplifies a CCL2-mediated pathogenic loop.	Arthritis Res. Ther	15	R74	2013
	Satoh T, Miyazaki K, Shimohira A, Amano N, Okazaki Y, Nishimoto T, Akahoshi T, Munekata S, Kanoh Y, Ikeda Y, Higashihara M, Takahashi S, <u>Kuwana M.</u>	Fc γ receptor IIB gene polymorphism in adult Japanese patients with primary immune thrombocytopenia (letter).	Blood	122	1991-1992	2013
	<u>Kuwana M.</u> , Okazaki Y, Ikeda Y.	Detection of circulating B cells producing anti-GPIb autoantibodies in patients with immune thrombocytopenia.	PLoS One	9	e86943	2014
	<u>Kuwana M.</u> , Okazaki Y.	Impaired in vivo neovascularization capacity of endothelial progenitor cells in patients with systemic sclerosis.	Arthritis Rheum		In press	
	<u>Kuwana M.</u>	Dysregulated negative immune regulators in immune thrombocytopenia.	ISBT Sci. Ser		In press	

	発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	年
田村直人	51. Murayama G, Ogasawara M, Nemoto T, Yamada Y, Ando S, Minowa K, Kon T, Tada K, Matsushita M, Yamaji K, <u>Tamura N.</u> , Takasaki Y	Clinical miscount of involved joints denotes the need for ultrasound complementation in usual practice for patients with rheumatoid arthritis.	Clin Exp Rheumatol	31	506-514	2013
	<u>田村直人</u>	NF- κ B阻害薬 分子標的療法による炎症制御の現状と未来	別冊BIO Clinica 慢性炎症と疾患	2	36-41	2013
	<u>田村直人</u>	PI3キナーゼ阻害薬	炎症と免疫	21	234-238	2013