

において行い必要があれば臨床検体を提供する体制を整備する。将来的に検体を収集でき施設を増やし、バンクの充実を図って行く予定であるが、関連一説の、同病院の倫理委員会の承認を得て、より多くの検体の供給を可能とすることを旨とする。図1参照

#### (倫理面への配慮)

#### インフォームドコンセント

大阪大学医学部医学倫理委員会により承認を得て、文書により包括同意を得て、検体を収集する。本研究への利用に関してはすでに大阪大学医学部附属病院の倫理委員会にて承認を得ている。またいずれも医薬基盤研究所を共同研究者、研究協力者として承認を得ている。

#### C. 研究結果

結果はD項にまとめて記載した。

#### D. 結果・考察

検体バンクとして包括同意のもと、検体の収集を開始している。現在は次世代型IL-6受容体抗体の臨床試験が開始されていないので、従来型IL-6受容体抗体治療患者を特に重点的に検体収集を行なっているが、現時点で本研究の対象とならないものも含めて1000検体以上のサンプルが集積され、検体バンクとしてのシステムは順調に稼働している。関連施設も含めたシステムをさらに拡充していく予定であるが、本年度は公立学校共済近畿中央病院、大阪府立急性期総合医療センター、日生病院、NTT西日本大阪病院の4施設が参加し各施設での倫理委員会の手続きが完了し公立学校共済近畿中央病院よりの検体収集が実際に開始された。他施設からの検体搬送のシステムが確立していないために検体の収集が進みにくく、検体の大半が大阪大学医学部附属御病院に「偏っていることが問題点としてあげられ、搬送システムの確立がなされればより多くの検体を収集することができると考えられる。

#### E. 結論

本研究において必要な臨床検体の収集するためのシステムが構築でき、順調に検体を蓄積しており、さらに検体の集積を広く行なっていく。本研究のみならず様々研究に利用可能なシステムが構築された。このシステムを用いて収集された大量の検体を利用することにより本研究の進捗に寄与した。

#### F. 健康危険情報

該当無し。

#### G. 研究発表

##### G-1 論文発表

1. Inoue T, Iijima H, Arimitsu J, Hagihara K, Kawai S, Shiraishi E, Hiyama S, Mukai A, Shinzaki S, Nishida T, **Ogata A**, Tsujii M, Takehara T. Amelioration of Small Bowel Injury by Switching from Nonselective Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs to Celecoxib in Rheumatoid Arthritis Patients: A Pilot Study. *Digestion*. 2014;89(2):124-132.

2. **Ogata A**, Tanimura K, Sugimoto T, Inoue H, Urata Y, Matsubara T, Kondo M, Ueki Y, Iwahashi M, Tohma S, Ohta S, Saeki Y, Tanaka T. and the MUSASHI Study Investigators. Phase III study of the efficacy and safety of subcutaneous versus intravenous tocilizumab monotherapy in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2014;66(3):344-54.

3. Tanaka T, Narazaki M, **Ogata A**, Kishimoto T. A new era for the treatment of inflammatory autoimmune diseases by interleukin-6 blockade strategy. *Semin Immunol*. 2014;26(1):88-96.

4. Tanaka T, Hishitani Y, **Ogata A**.

Monoclonal antibodies in rheumatoid arthritis: comparative effectiveness of tocilizumab with tumor necrosis factor inhibitors. *Biologics*. 2014;8:141-53.

5. Shima Y, Hosen N, Hirano T, Arimitsu J, Nishida S, Hagihara K, Narazaki M, **Ogata A**, Tanaka T, Kishimoto T, Kumanogoh A. Expansion of range of joint motion following treatment of systemic sclerosis with tocilizumab. *Mod Rheumatol*. 2015;25(1):134-7.

6. Urushima H, Sanada Y, **Ogata A**, Yoshida M, Lin H, Hagihara K, Narazaki M, Tanaka T, Ito T, and Maeda K. Tocilizumab increases serum adiponectin and reduces serum fatty acid binding protein 4 in patients with rheumatoid arthritis. *J Endocrinol Metab* 2014 Dec;4(5-6):143-7.

#### G-2 学会発表

1. 田中敏郎、西岡紘治、平野亨、嶋良仁、榎崎雅司、**緒方篤**、熊ノ郷淳. 免疫難病における IL-6 過剰産生の分子機構. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2014.4.24-26.

2. 吉田佑志、**緒方篤**、富田哲也、平野亨、嶋良仁、榎崎雅司、田中敏郎、熊ノ郷淳. 可溶性 Sema4D は関節リウマチ患者の血清、関節液で上昇し、疾患活動性と相関する. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2014.4.24-26.

3. 嶋良仁、菱谷好洋、中林晃彦、平野亨、榎崎雅司、**緒方篤**、田中敏郎、熊ノ郷淳. 3 年間のトシリズマブ投与を行なった全身性強皮症患者の生化学データの推移. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2014.4.24-26.

4. 松浦良信、榎崎雅司、加藤保宏、細川貴司、

西岡紘治、嶋良仁、**緒方篤**、熊ノ郷淳. トシリズマブの期間短縮投与で寛解に至った高疾患活動性関節リウマチの症例. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2014.4.24-26.

5. 加藤保宏、平野亨、菱谷好洋、**緒方篤**、田中敏郎、熊ノ郷淳. 関節リウマチの実地臨床におけるトシリズマブ皮下注の臨床経過-治験との比較-、再投与症例の観察-. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2014.4.24-26.

6. 濱野芳匡、木田博、森島淳仁、平野亨、榎崎雅司、嶋良仁、**緒方篤**、立花功、田中敏郎、熊ノ郷淳. 特発性非特異的間質性肺炎診断における抗 Mx1 抗体の有用性. 第 58 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 東京 2014.4.24-26.

7. Yoshida Y, **Ogata A**, Tomita T, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Tanaka T, Kumanogoh A. Soluble Semaphorin 4D in rheumatoid arthritis. The 58th Annual General Assembly and Scientific Meeting of the Japan College of Rheumatology, International Rheumatology Symposium. Tokyo Japan, April 24-26, 2014.

8. **緒方篤**. 関節リウマチにおける IL-6 阻害療法-トシリズマブ皮下注療法-. 第 48 回九州リウマチ学会イブニングセミナー. 久留米 2014.9.6.

#### H. 知的財産の出願. 登録状況

該当無し。

次世代型IL-6受容体抗体使用時の炎症マーカーとしての  
LRG定量キットの開発 ―抗体作製法に関する検討―

分担研究者 角田 慎一

独立行政法人医薬基盤研究所 創薬基盤研究部 バイオ創薬プロジェクト プロジェクトリーダー

## 研究要旨

本研究事業は、関節リウマチ(RA)の患者において、抗IL-6R抗体医薬等による治療効果を客観的に評価しうるバイオマーカーとして血清leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG)の有用性を明らかとし、臨床検査法への応用を図るものである。検査薬としての抗体を作成するにあたり、一般的な抗体作製法である動物への免疫とハイブリドーマの作製による方法では、必ずしも至適な抗体を取得できない場合も多い。そこで本分担研究では、検査薬として有用な抗LRG抗体の作製を念頭に、ファージ抗体ライブラリによる抗体のin vitro迅速創製技術の確立を試みることにした。昨年度までにマウス由来非免疫・免疫ファージ抗体ライブラリからの抗体取得法を整えた。本年度は安定性に優れた抗体を取得しうる合成抗体遺伝子ライブラリの構築を試みた。

## A. 研究目的

本研究事業は、関節リウマチ(RA)の患者において、抗IL-6R抗体医薬等による治療効果を客観的に評価しうるバイオマーカーとして血清leucine-rich alpha-2 glycoprotein (LRG)の有用性を明らかとし、臨床検査法への応用を図るものである。

バイオマーカータンパク質の測定による臨床検査薬としては、抗体による定量的検出系が特異性や簡便性、コストに点から最も有望な方法の一つと考えられる。LRGについては、産生細胞による糖鎖付加の違いなどにより、生理機能が異なる可能性が示唆されていることから、検出用抗体の最適化が重要になるものと考えられる。また、一般的な抗体作製法である動物への免疫とハイブリドーマの作製による方法では、必ずしも至適な抗体を取得できない場合も多い。そこで本分担研究では、検査薬として有用な抗LRG抗体を効率良く作製することを念頭に、ファージ抗体

ライブラリによるin vitro抗体迅速創製技術の確立を試みることにした。

ファージ抗体ライブラリは、多様なレパトリーの抗体Vドメインを一本鎖化したscFv型抗体をファージ表面に網羅的に発現させるものである。In vitroにおいて、標的抗原に親和性を有するscFvを発現するクローンを速やかに濃縮し、最短2週間程度で特異的結合性のscFv発現ファージ、および、scFv遺伝子を取得することが可能となる。

本年度は、安定性に優れた抗体を取得可能となるよう合成抗体遺伝子によるファージ抗体ライブラリの構築を試みた。

## B. 研究方法

### 合成抗体遺伝子ファージ抗体ライブラリの調製

安定性に優れた抗体を取得するため、ヒトの抗体として出現頻度の高いH鎖遺伝子DP47, L鎖遺伝子DPL11, DPL16, DPK22, DPK24

を骨格とし、H鎖 CDR3 領域を 4～7 アミノ酸のランダム配列に、L鎖 CDR3 領域を 5 アミノ酸のランダム配列になるようライブラリを設計した。ファージミドベクター pY03'-FLA G に組み込み、大腸菌 TG1 にエレクトロポレーションで導入することで scFv 抗体遺伝子ライブラリを構築した。大腸菌にヘルパーファージを感染させることで、scFv 発現ファージライブラリを得た。抗原に対する親和性クローンは、これまでのマウス抗体ライブラリのパンニングの手法に準じた。

### C. 研究結果

結果は D 項にまとめて記載した。

### D. 結果・考察

本年度は、検査薬として有用な安定性に優れた抗 LRG 抗体を効率良く作製することを念頭に、合成遺伝子ファージ抗体ライブラリの構築を試みた。安定性に優れた抗体を取得するため、ヒトの抗体として出現頻度の高い H 鎖遺伝子 DP47, L 鎖遺伝子 DPL11, DPL16, DPK22, DPK24 を骨格とし、H 鎖 CDR3 領域を 4～7 アミノ酸のランダム配列に、L 鎖 CDR3 領域を 5 アミノ酸のランダム配列になるようライブラリを設計した (図 1)。

構築した抗体ライブラリの遺伝子配列をシーケンス解析した結果、偏りも少ないランダムな配列で構築されていることが確認できた。最終的にライブラリサイズが約 100 億の scFv 抗体ライブラリを構築できた。

次いで、scFv 発現ファージライブラリを産生させモデル抗原に親和性のクローンの取得を試みた。パンニングによるクローン濃縮、さらにモノクローン化後のスクリーニングの結果、抗原特異的なクローンを複数取得することができた。

以上の結果より、安定性に優れた骨格を有する抗体を迅速に取得する手法が整った。取得できた抗体の特性次第では、さらに親和性

向上技術の適用も必要となるものの、本手法は検査薬としての抗体取得に有用と考えられる。

### E. 結論

本研究では、検査薬用の抗体を迅速に取得しうる抗体作製技術として、合成抗体遺伝子ファージライブラリを構築した。今後、本結果をもとに、LRG に対する抗体作製等を試みる予定である。

### F. 健康危険情報

該当無し。

### G. 研究発表

#### G-1. 論文発表

1. Inoue M, Kamada H, Abe Y, Higashisaka K, Nagano K, Mukai Y, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, **Tsunoda S**: Aminopeptidase P3 (APP3), a novel member of the TNF/TNFR2 signaling complex, induces phosphorylation of JNK. *J. Cell Sci.* in press.

2. Kamada H, Taki S, Nagano K., Inoue M, Ando D, Mukai Y, Higashisaka K, Yoshioka Y, Tsutsumi Y, **Tsunoda S**: Generation and characterization of a bispecific Diabody targeting EPH receptor A10 and CD3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 456:908-912, 2015.

3. Nagano K, Yamashita T, Inoue M, Higashisaka K, Yoshioka Y, Abe Y, Mukai Y, Kamada H, Tsutsumi Y, **Tsunoda S**: Eph receptor A10 has a potential as a target for a prostate cancer therapy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 450(1):545-9, 2014.

4. Nagano K, Maeda Y, Kanasaki S, Watanabe T, Yamashita T, Inoue M, Higashisaka K, Yoshioka Y, Abe Y, Mukai Y, Kamada H, Tsutsumi Y, **Tsunoda S**: Ephr in receptor A10 is a promising drug target potentially useful for breast cancers including triple negative breast cancers, *J. Controlled Release*. 189:72-9, 2014.

#### G-2. 学会発表

1. 安藤大介, 鎌田春彦, 井上雅己, 長野一也, 向 洋平, 堤 康央, **角田慎一**: 炎症性腸疾患モデルマウスに対する TNFR1 指向性アンタゴニストの治療効果, 第 30 回日本 DDS 学会, 東京, 2014 年 7 月.

2. 鎌田春彦, 井上雅己, 阿部康弘, 長野一也, 向 洋平, 東阪和馬, 吉岡靖雄, 堤 康央, **角田慎一**: TNFR2 のシグナル伝達解明に向けたヒト TNFR2 指向性変異体の創製とその応用, 第 87 回日本生化学会大会, 京都, 2014 年 10 月.

3. 森 宣瑛, 向 洋平, 東阪和馬, 吉岡靖雄, 長野一也, 鎌田春彦, **角田慎一**, 堤 康央: 短期間での抗体取得に向けた最適な免疫方法の探索, 第 87 回日本生化学会大会, 京都, 2014 年 10 月.

4. 三里一貴, 向 洋平, 東阪和馬, 吉岡靖雄, 長野一也, 鎌田春彦, **角田慎一**, 堤 康央: 独自に構築した非免疫ヒト型フェージ抗体ライブラリの品質評価, 日本薬学会第 135 年会, 神戸, 2015 年 3 月.

5. 森 宣瑛, 向 洋平, 東阪和馬, 吉岡靖雄, 長野一也, 鎌田春彦, **角田慎一**, 堤 康央: 短期間での高親和性抗体取得に向けた最適な免疫方法の探索, 日本薬学会第 135 年会, 神戸, 2015 年 3 月.

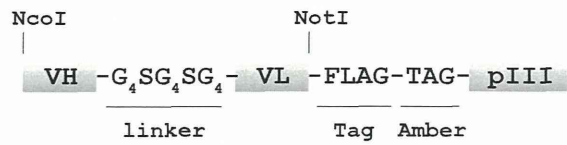
#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し。

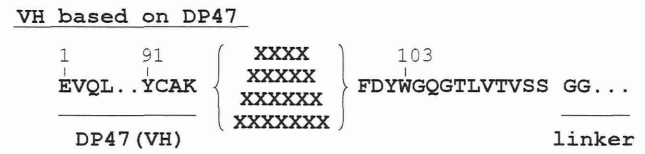
#### I. 協力研究者

鎌田春彦	独立行政法人医薬基盤研究所 バイオ創薬プロジェクト サブプロジェクトリーダー
向 洋平	独立行政法人医薬基盤研究所 抗体スクリーニングプロジェクト サブプロジェクトリーダー
長野一也	独立行政法人医薬基盤研究所 バイオ創薬プロジェクト プロジェクト研究員

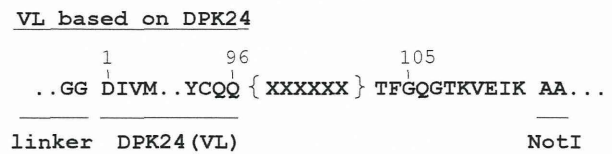
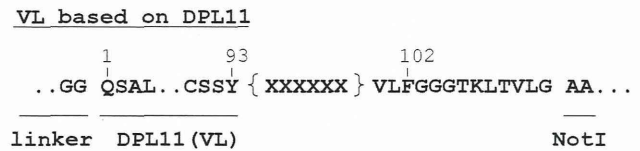
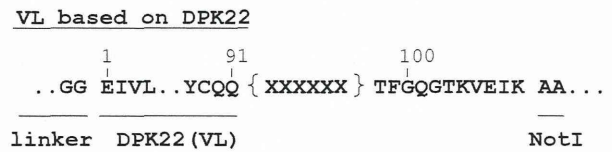
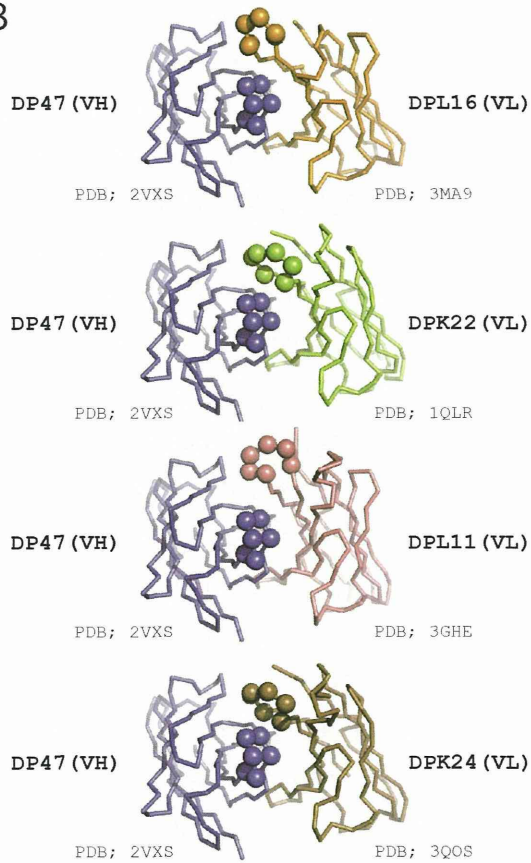
A



C



B



X; mixed residues  
 NNK; all 20 amino acids (32 codons)  
 N; A/T/G/C, K; G/T

図1 構築した合成抗体遺伝子ファージ抗体ライブラリ

- A) scFv遺伝子のコンストラクト
- B) 用いた抗体の骨格の立体構造
- C) 合成抗体遺伝子 (CDR領域) のコンストラクト

## 抗 leucine rich alpha-2 glycoprotein(LRG)抗体の開発と ELISA システムの構築

研究分担者 服部有宏 中外製薬株式会社 富士御殿場研究所

研究本部 探索研究部 探索研究部長

### 研究要旨

近年、関節リウマチ(RA)等の自己免疫疾患に対して抗体医薬品が開発され、優れた治療効果を示している。RA の治療には TNF-alpha を阻害する生物学的製剤(infliximab、etanercept など)や、抗原提示細胞と T 細胞間の共刺激経路を阻害することで T 細胞活性化を調節する生物製剤(abatacept)以外にも、本邦で開発された IL-6 受容体抗体(tocilizumab)が劇的な治療効果を上げている。現在、スーパー特区(岸本班)において共同研究者の中外製薬は次世代型 IL-6 受容体抗体を開発中である。次世代型 IL-6 受容体抗体は、最新のタンパク工学技術(Igawa T *et al*, Nat Biotechnol 2010)を用いて現行の IL-6 受容体抗体(tocilizumab)に比べて半減期を 2 倍以上に延長したものであり、投与回数の減少により医療費の削減に貢献するものと期待される。しかし、IL-6 受容体抗体に無効な症例も存在するため、無効例を早期に判別し薬剤変更することが疾患の進行を阻止するために重要である。現在、RA の疾患活動性マーカーとして CRP が使用されているが、IL-6 受容体抗体投与時には IL-6 依存性の CRP が常に陰性化し、感染症を合併しても上昇することがないため、無効例への継続投与やその発見の遅れから感染症重症化の懸念がある。本研究代表者の仲らのグループは血清中の leucine rich alpha-2 glycoprotein(LRG)濃度が CRP よりも RA の疾患活動性とより強く相関することを明らかにしている(Serada S, Naka T, *et al*, Ann Rheum Dis 2010)。そして、LRG の発現が IL-6 以外にも IL-22 や TNF-alpha などのサイトカインにより誘導されることも報告している。

本研究では native な立体構造を認識する LRG モノクローナル抗体を複数種類作成し、ELISA システムの構築を試みた。その結果、非常に高感度なヒト LRG ELISA システムの構築に成功した。この ELISA システムについて血清以外の生体試料についても LRG の定量が出来るかどうかを検討した。その結果、潰瘍性大腸炎患者糞便中の LRG および全身性エリテマトーデス(SLE)患者尿中の LRG を定量する事が可能であったことから、本 ELISA システムが血清以外の生体試料における LRG の定量に応用可能であることが明らかとなった。

#### A. 研究目的

近年、関節リウマチ(RA)等の自己免疫疾患に対して抗体医薬品が開発され、優れた治療効果を示している。RA の治療には TNF-alpha を阻害する生物学的製剤(infliximab、etanercept など)や、抗原提示細胞と T 細胞間の共刺激経路を阻害することで T 細胞活性化を調節する生物製剤(abatacept)以外にも、本邦で開発された IL-6 受容体抗体

(tocilizumab)が劇的な治療効果を上げている。現在、スーパー特区(岸本班)において共同研究者の中外製薬は次世代型 IL-6 受容体抗体を開発中である。次世代型 IL-6 受容体抗体は、最新のタンパク工学技術(Igawa T *et al*, Nat Biotechnol 2010)を用いて現行の IL-6 受容体抗体(tocilizumab)に比べて半減期を 2 倍以上に延長したものであり、投与回数の減少により医療費の削減に貢献するものと期

待される。しかし、IL-6 受容体抗体に無効な症例も存在するため、無効例を早期に判別し薬剤変更することが疾患の進行を阻止するために重要である。現在、RA の疾患活動性マーカーとして CRP が使用されているが、IL-6 受容体抗体投与時には IL-6 依存性の CRP が常に陰性化し、感染症を合併しても上昇することがないため、無効例への継続投与やその発見の遅れから感染症重症化の懸念がある。本研究代表者の仲らのグループは血清中の leucine rich alpha-2 glycoprotein(LRG)濃度が CRP よりも RA の疾患活動性とより強く相関することを明らかにしている (Serada S, Naka T, *et al*, Ann Rheum Dis 2010)。そして、LRG の発現が IL-6 以外にも IL-22 や TNF-alpha などのサイトカインにより誘導されることも報告している。

本研究では昨年度までに開発した血清中の LRG を高感度に検出する ELISA システムについて、血清以外の生体試料における LRG の定量の検討を目的とした。

## B. 研究方法

### (1) ヒト LRG に対する抗体の作製

ウサギにヒト LRG タンパク質を4回免疫し、末梢血リンパ球と脾臓より IgG 陽性 B 細胞を MACS で精製し、LRG と結合する抗体を持つ B 細胞を FACS にて選択した。抗体の可変領域の DNA 配列解析を行い、動物細胞に抗体遺伝子を導入して培養上清から抗体を精製した。Octet システムを用いた相互作用解析によりヒト LRG と強く結合する抗体を選別した。

### (2) 潰瘍性大腸炎糞便検体中の LRG の定量

昨年度までに開発したヒト LRG モノクローナル抗体を組み合わせることでサンドイッチ ELISA システムを構築した。

潰瘍性大腸炎の糞便中 LRG の定量において糞便検体の前処理が必要となる。まず、便サンプルを解凍し、SAS buffer for stool

sample( (Dilution 1:50))のスティックを用いて解凍した便検体を取り、LRG の ELISA dilution バッファー(50 mM Tris-HCl, 138mM NaCl, 2.7 mM KCl, 0.05% Tween 20, pH8.0 (TBST) + 0.5% BSA + 0.4% BLOCK ACE)0.75ml にてタンパク質の抽出を行い、このチューブで 0.75ml の懸濁液を調製し、1.5ml チューブに移した。続いて遠心(13,200rpm, 4度, 10min)上清を新しいチューブに回収し、ELISA のサンプルとした。

### (3) SLE 尿検体中の LRG の定量

SLE 尿検体を LRG の ELISA dilution バッファーにて希釈し、ELISA にて測定した。

### (倫理面への配慮)

本研究は中外製薬研究倫理委員会および中外製薬実験動物の飼育と使用に関する委員会の承認を得て行っている。

## C. 研究結果

結果は D 項にまとめて記載した。

## D. 結果・考察

研究分担者の服部(中外製薬)のグループでは、ウサギにヒト LRG タンパク質を免疫し、LRG に結合する B 細胞を分離し、B 細胞から分泌された抗体と LRG の結合評価を行い、B 細胞を選抜した。得られた 94 種類の B 細胞から抗体遺伝子をクローニングし、各抗体の競合 ELISA 解析により分類し、抗 LRG 抗体を分類した。得られた抗体は、サンドイッチ ELISA を開発するために 2 種類のモノクローナルの組み合わせを詳細に検討した結果、固相化用抗体として#91、検出用抗体として#48 を用いると血清中の LRG を定量する際に最も高い感度を得られることが明らかとした。この抗体の組み合わせを用いて血清以外の生体試料として潰瘍性大腸炎患者の糞便検体、SLE 患者尿検体について LRG の定量を試みた。測定は研究代表者の医薬基盤研究所、仲哲治の研究協



力者の世良田聡が医薬基盤研究所にて実施した。その結果、新規に開発した ELISA システムは潰瘍性大腸炎患者の糞便検体中の LRG を定量出来る事が明らかとなった(図 1)。市販の ELISA キットでは定量出来ないことから本研究で新規に開発した LRG の ELISA キットの有用性が示された。さらに、開発した ELISA キットを用いて SLE 患者尿検体について LRG の定量を試みた結果、本 ELISA システムを用いることで尿中の LRG も検出出来ることが明らかとなった(図 2)。

## E. 結論

本研究にて新たに開発した LRG 抗体は native な LRG の立体構造を認識するものであり、従来の変性させた LRG を認識する ELISA システムとは異なるものである。さらに、血清以外にも尿、糞便中の LRG も定量出来る事が明らかとなったため、SLE であれば尿検体、炎症性腸疾患であれば糞便検体中の LRG を定量する事で疾患活動性マーカーとして活用できる可能性が示唆された。今後、尿 LRG や糞便中 LRG の疾患活動性マーカーとしての有用性を大規模な N 数で検証することにより、新規マーカーとして実用化できることが期待される。

## F. 健康危険情報

該当無し。

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

1. Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, Sampei Z, Kuramochi T, Sakamoto A, Haraya K, Adachi K, Kawabe Y, Nogami K, Shima M, **Hattori K**. Anti-factor IXa/X bispecific antibody ACE910 prevents joint bleeds in a long-term primate model of acquired hemophilia A. *Blood*. 2014 Nov

13;124(20):3165-71.

2. Igawa T, Mimoto F, **Hattori K**.

pH-dependent antigen-binding antibodies as a novel therapeutic modality. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Nov;1844(11):1943-1950.

3. Muto A, Yoshihashi K, Takeda M, Kitazawa T, Soeda T, Igawa T, Sakamoto Y, Haraya K, Kawabe Y, Shima M, Yoshioka A, **Hattori K**. Anti-factor IXa/X bispecific antibody (ACE910): hemostatic potency against ongoing bleeds in a hemophilia A model and the possibility of routine supplementation. *J Thromb Haemost*. 2014 Feb;12(2):206-213.

4. Mimoto F, Kadono S, Katada H, Igawa T, Kamikawa T, **Hattori K**. Crystal structure of a novel asymmetrically engineered Fc variant with improved affinity for FcγRs. *Mol Immunol*. 2014 Mar;58(1):132-8.

### G-2. 学会発表

該当無し。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し。

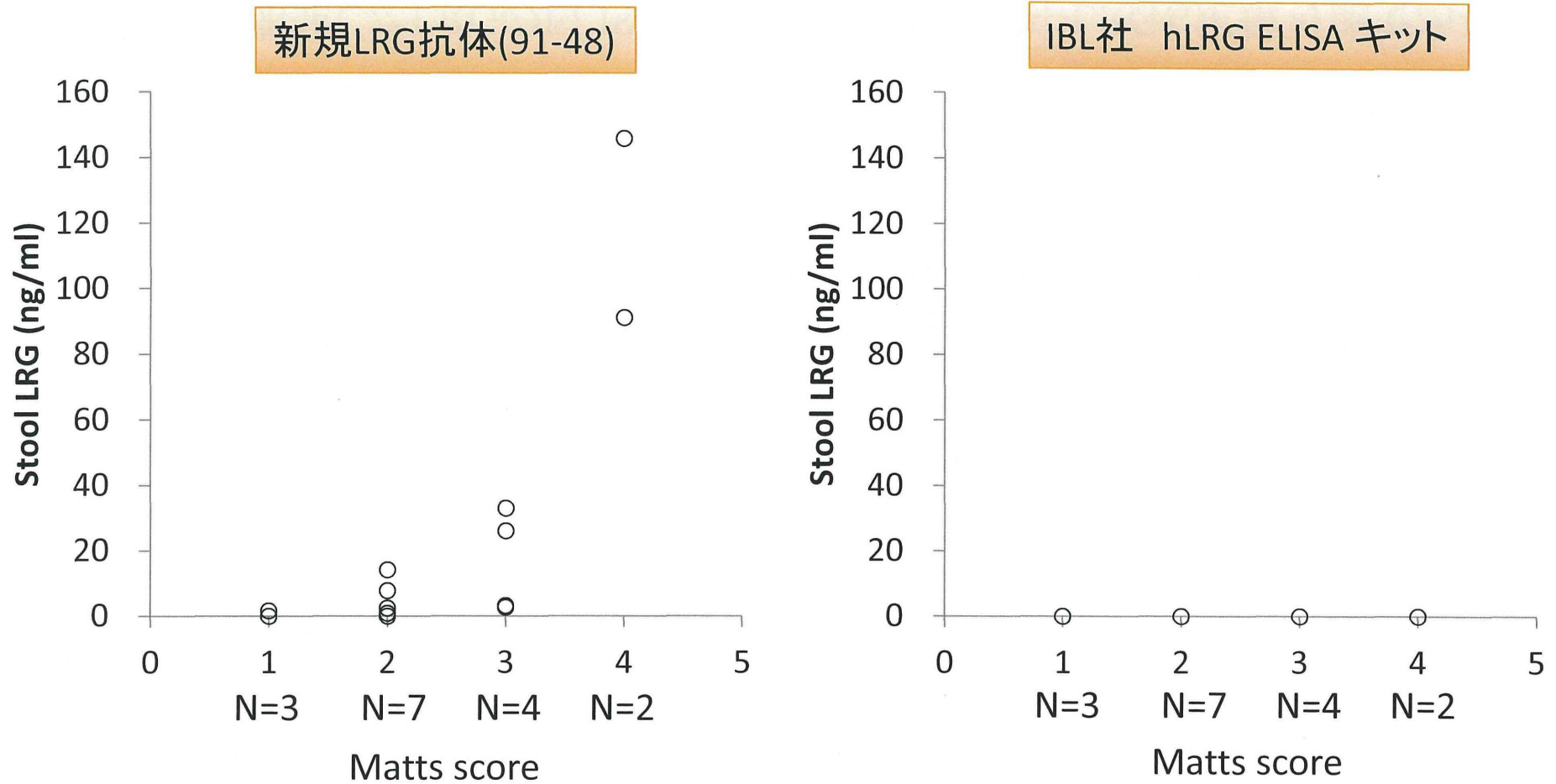


図1. 新規に開発したLRGのELISAキットは潰瘍性大腸炎患者糞便中のLRGも定量可能である

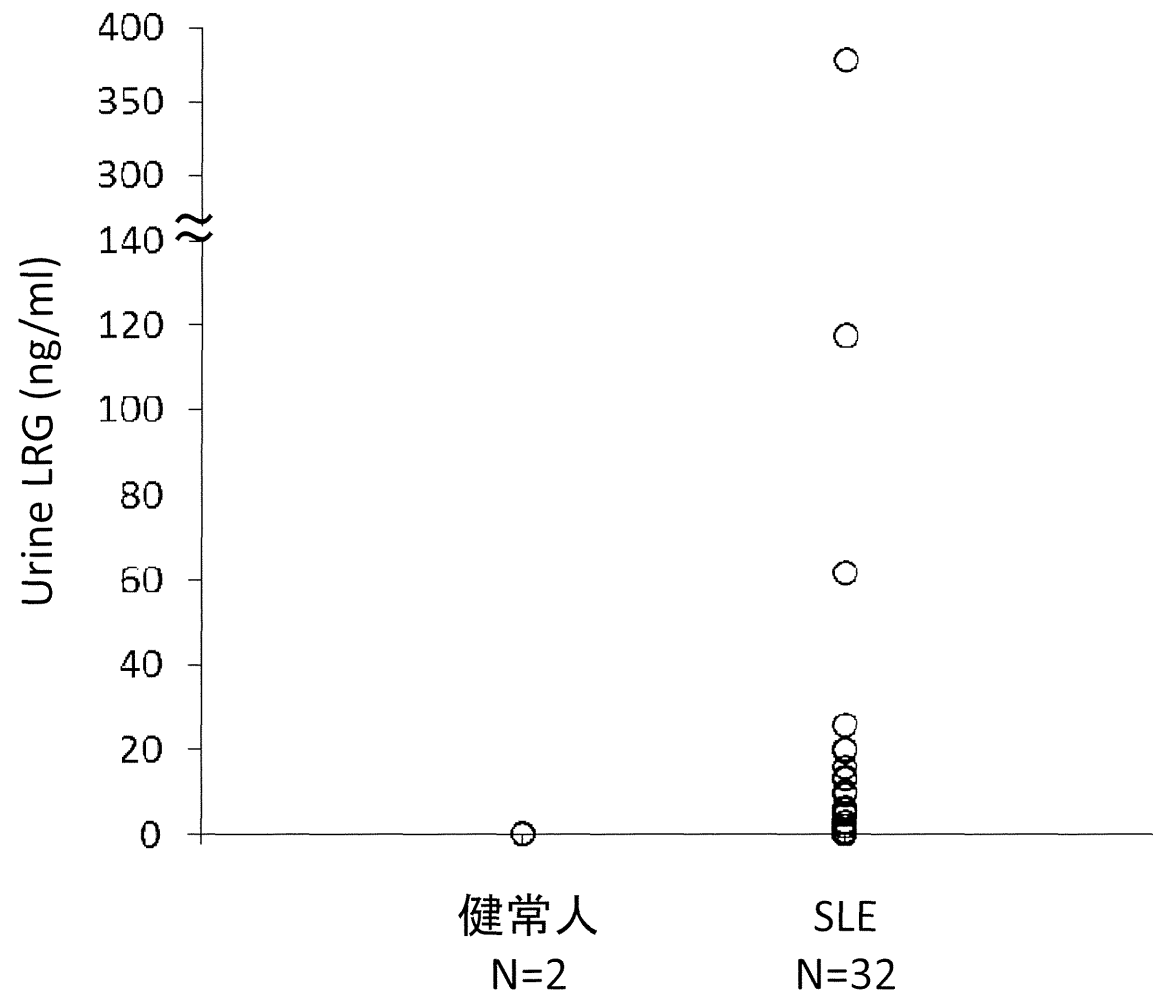


図2.新規に開発したLRGのELISAキットはSLE患者尿中LRGも定量可能である

## H26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	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Furukawa K, Kawamoto K, Eguchi H, Tanemura M, Tomimaru Y, Akita H, Hama N, Wada H, Kobayashi S, Nonaka Y, Takamatsu S, Shinzaki S, Kumada T, Satomura S, Ito T, Serada S, <u>Naka T</u> , Mori M, Doki Y, Miyoshi E, Nagano H.	Clinico- Pathological Significance of Leucine-Rich Alpha- 2-Glycoprotein-1 in Sera of Patients with Pancreatic Cancer.	Pancreas	Jan;44(1)	93-98	2015
Yang L, Fujimoto M, Murota H, Serada S, Fujimoto M, Honda H, Yamada K, Suzuki K, Nishikawa A, Hosono Y, Yoneda Y, Takehara K, Imura Y, Mimori T, Takeuchi T, Katayama I, <u>Naka T</u> .	Proteomic identification of heterogeneous nuclear RNP-K as a novel cold- associated autoantigen in patients with secondary Raynaud' s phenomenon.	Rheumatology	In Press		2014
Kawabata A, Serada S, <u>Naka T</u> , Mori Y.	Human herpesvirus 6 gM/gN complex interacts with v- SNARE in infected cells.	Journal of General Virology	Dec;95 (Pt 12)	2769-77	2014
AzumaK, Serada S, Takamatsu S, Terao N, Takeishi S, Kamada Y, <u>Naka T</u> , Miyoshi E.	Identification of sialylated glycoproteins in doxorubicin-treated hepatoma cells with glycoproteomic analyses.	Journal of Proteome Research	Nov 7; 13(11)	4869-77	2014

Morimoto A, Serada S, Enomoto T, Kim A, Matsuzaki S, Yokoyama T, Takahashi T, Ueda Y, Yoshino K, Fujita M, Fujimoto M, Kimura T, <u>Naka T.</u>	Annexin A4 induces platinum resistance in a chloride- and calcium-dependent manner.	Oncotarget	Sep 15; 5(17)	7776-87	2014
Kotobuki Y, Yang L, Serada S, Tanemura A, Yang F, Nomura S, Kudo A, Izuhara K, Murota H, Fujimoto M, Katayama I, <u>Naka T.</u>	Periostin Accelerates Human Malignant Melanoma Progression by Modificating the Melanoma Microenvironment.	Pigment Cell Melanoma Res	2014 Jul; 27(4)	630-9	2014
Oji Y, Tatsumi N, Fukuda M, Nakatsuka S, Aoyagi S, Hirata E, Nanchi I, Fujiki F, Nakajima H, Yamamoto Y, Shibata S, Nakamura M, Hasegawa K, Takagi S, Fukuda I, Hoshikawa T, Murakami Y, Mori M, Inoue M, <u>Naka T.</u> , Tomonaga T, Shimizu Y, Nakagawa M, Hasegawa J, Nezu R, Inohara H, Izumoto S, Nonomura N, Yoshimine T, Okumura M, Morii E, Maeda H, Nishida S, Hosen N, Tsuboi A, Oka Y, Sugiyama H.	The translation elongation factor eEF2 is a novel tumor- associated antigen overexpressed in various types of cancers.	Int J Oncol	May;44(5)	1461-9	2014

8. Yang L, Murota H, Serada S, Fujimoto M, Kudo A, <u>Naka T</u> , Katayama I.	Histamine Contributes to Tissue Remodeling via Periostin Expression.	J Invest Dermatol	Aug;134(8)	2105-13	2014
Matsuzaki S, Enomoto T, Serada S, Yoshino K, Nagamori S, Morimoto A, Yokoyama T, Kim A, Kimura T, Ueda Y, Fujita M, Fujimoto M, Kanai Y, Kimura T, <u>Naka T</u> .	Annexin A4-conferred platinum resistance is mediated by the copper transporter ATP7A.	Int J Cancer	Apr 15; 134(8)	1796-809	2014
Sadaoka T, Serada S, Kato J, Hayashi M, Gomi Y, <u>Naka T</u> , Yamanishi K, Mori Y.	Varicella-zoster virus ORF49 functions in the efficient production of progeny virus through its interaction with essential tegument protein ORF44.	Journal of Virology	Jan;88(1)	188-201	2014
Ota M, Serada S, <u>Naka T</u> , Mori Y.	MHC class I molecules are incorporated into human herpesvirus-6 viral particles and released into the extracellular environment.	Microbiol Immunol	Feb;58(2)	119-25	2014
Shirai Y, Okazaki Y, Inoue Y, Tamura Y, Yasuoka H, <u>Takeuchi T</u> , and Kuwana M.	Elevated pentraxin 3 in systemic sclerosis: Associations with vascular manifestations and defective vasculogenesis.	Arthritis & Rheumatology	Feb;67(2)	498-507	2015

<u>Takeuchi T</u> , Matsubara T, Ohta S, Mukai M, Amano K, Tohma S, Tanaka Y, Namanaka H, and Miyasaka N.	Biologic-free remission of established rheumatoid arthritis after discontinuation of abatacept: a prospective multi- center, observationa l study in Japan.	Rheumatology	Online September 24		2014
Kaneko Y, Koike T, Oda H, Yamamoto K, Miyasaka N, Harigai M, Yamanaka H, Ishiguro N, Tanaka Y, and <u>Takeuchi T</u> .	Obstacles to the implementation of the treat-to-target strategy for rheumatoid arthritis and safety of certolizumab pegol in Japanese rheumatoid arthritis in clinical practice in Japan.	Mod Rheum	Online June 20		2014
Akiyama M, Kaneko Y, Hanaoka H, Kuwana M, <u>Takeuchi T</u> .	Polychondritis presenting with oculomotor and abducens nerve palsies as initial manifestation.	Mod Rheum	Online June 2		2014
Inaba T, Hisatsune C, Sasaki Y, Sasaki Y, Ogawa Y, Ebisu E, Ogawa N, Matsui M, <u>Takeuchi T</u> , Mikoshiba K, and Tsubota T.	Mice lacking inositol 1,4,5- triphosphate receptors exhibit dry eye.	Plos One	9:e99205		2014

<p>Mok CC, Yap DY, Navarra SV, Liu Z-H, Zao M-H, Lu L, <b>Takeuchi T</b>, Avihingsanon Y, Yu X-Q, Lapid EA, Lague-Lizardo LR, Smethkul V, Shen N, Chen S-L, and Chan TM, for the Asian Lupus Nephritis Network.</p>	<p>Overview of lupus nephritis management guidelines and perspective from Asia.</p>	<p>Nephrology</p>	<p>19</p>	<p>11-20,</p>	<p>2014</p>
<p>Izumi K, Kaneko Y, Yasuoka H, Seta N, Kameda H, Kuwana M, and <b>Takeuchi T</b>.</p>	<p>Tocilizumab is clinically, functionally and radiographically effective and safe either with or without low-dose methotrexate in active rheumatoid arthritis patients with inadequate responses to DMARDs and/or TNF inhibitors: A single center retrospective cohort study (KEIO-TCZ study) at 52 week.</p>	<p>Mod Rheum</p>	<p>Online April</p>		<p>2014</p>
<p>Kaneko Y, Kuwana M, Kondo H, <b>Takeuchi T</b>.</p>	<p>Discordance in global assessments between patient and estimator in patients with newly diagnosed rheumatoid arthritis: associations with progressive joint destruction and functional impairment.</p>	<p>J Rheumatology</p>	<p>40</p>	<p>1061-66</p>	<p>2014</p>



<u>Takeuchi T</u> , Matubara T, Urata Y, Suematsu E, Ohta S, Honjyo S, Abe T, Yamamoto A, Miyasaka N, and the Japan Abatacept Study Group.	Phase III, multicenter, open- label, long-term study of the safety of abatacept in Japanese patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate conventional or biologic disease- modifying anti- rheumatic drugs.	Mod Rheum	24	744-753	2014
<u>Takeuchi T</u> , Kawai S, Yamamoto K, Harigai M, Ishida K, and Miyasaka M.	Post-marketing surveillance of the safety and effectiveness of tacrolimus in 3267 Japanese patients with rheumatoid arthritis.	Mod Rheum,	24	8-16	2014
<u>Takeuchi T</u> , Yamanaka H, Ishiguro N, Miyasaka N, Mukai M, Matsubara T, Uchida S, Akama H, Hartmut K, Vipin A, and Tanaka Y.	Adalimumab, a Human anti-TNF monoclonal antibody, outcome study for the prevention of joint damage in Japanese patients with early RA; the HOPEFUL 1 study.	Ann Rheum Dis	73	536-543	2014
Nishina N, Kikuchi J, Hashizume M, Yoshimoto K, Kameda H, <u>Takeuchi T</u> .	Baseline levels of soluble interleukin-6 receptor predict clinical remission in patients with rheumatoid arthritis treated with tocilizumab: implications for molecular targeted therapy.	Ann Rheum Dis	73	945-7	2014

Kaneko Y, Hanaoka H, Hirakata M, <u>Takeuchi T</u> , Kuwana M.	Distinct arthropaties of the hands in patients with anti-aminoacyl tRNA synthetase antibodies: usefulness of autoantibody profiles in classifying patients.	Rheumatology	53	1120-24	2014
Nishimoto N, Amano K, Hirabayashi Y, Horiuchi T, Ishii T, Iwahashi M, Iwamoto M, Kohsaka H, Kondo M, Matsubara T, Mimura T, Miyahara H, Ohta S, Saeki Y, Saito K, Sano H, Takasugi K, <u>Takeuchi T</u> , Tohma S, Tsuru T, Ueki Y, Yamana J, Hashimoto J, Matsutani T, Murakami M, Takagi N.	Drug free REmission/low disease activity after cessation of tocilizumab (Actemra) Monotherapy (DREAM) study.	Mod Rheum	24	17-25	2014
Nishimoto N, Amano K, Hirabayashi Y, Horiuchi T, Ishii T, Iwahashi M, Iwamoto M, Kohsaka H, Kondo M, Matsubara T, Mimura T, Miyahara H, Ohta S, Saeki Y, Saito K, Sano H, Takasugi K, <u>Takeuchi T</u> , Tohma S, Tsuru T, Ueki Y, Yamana J, Hashimoto J, Matsutani T, Murakami M, Takagi N.	Retreatment efficacy and safety of tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis in recurrence (RESTORE) study.	Mod Rheum	2	426-32	2014

Tanaka M, Koike R, Sakai R, Saito K, Hirata S, Nagasawa H, Kameda H, Hara M, Kawaguchi Y, Tohma S, Takasaki Y, Dohi M, Nishioka Y, Yasuda S, Miyazaki Y, Kaneko Y, <u>Nanki T</u> , Watanabe K, Yamazaki H, Miyasaka N, Harigai M.	Pulmonary infections following immunosuppressive treatments during hospitalization worsen the short-term vital prognosis for patients with connective tissue disease-associated interstitial pneumonia.	Mod Rheumatol	In press		
Miyabe Y, Miyabe C, <u>Nanki T</u> .	Could retinoids be a potential treatment for rheumatic diseases?	Rheumatol Int	35(1)	35-41	2015
Sakai R, Cho S, <u>Nanki T</u> , Koike R, Watanabe K, Yamazaki H, Nagasawa H, Amano K, Tanaka Y, Sumida T, Ihata A, Atsumi T, Nakajima A, Sugihara T, Tamura N, Fujii T, Dobashi H, Miura Y, Miyasaka N, Harigai M, and for the REAL study group.	The risk for serious infection in rheumatoid arthritis patients treated with tumor necrosis factor inhibitors has decreased over time: a report from the registry of Japanese rheumatoid arthritis patients for long-term safety (REAL) database.	Rheumatol Int	34(12)	1729-1736	2014
Miyabe Y, Miyabe C, Iwai Y, Yokoyama W, Harigai M, Miyasaka M, Miyasaka N, <u>Nanki T</u> .	Activation of fibroblast-like synoviocytes derived from rheumatoid arthritis by lysophosphatidic acid - lysophosphatidic acid receptor 1 cascade.	Arthritis ResTher	16(5)	461	2014

Sekine C, <u>Nanki T</u> , Yagita H.	Macrophage-derived delta-like protein 1 enhances interleukin-6 and matrix metalloproteinase-3 production by fibroblast-like synoviocytes in mice with collagen-induced arthritis.	Arthritis Rheumatol	66(10)	2751-2761	2014
Yokoyama W, Kohsaka H, Kaneko K, Walters M, Takayasu A, Fukuda S, Miyabe C, Miyabe Y, Love PE, Nakamoto N, Kanai T, Watanabe K, Charvat TT, Penfold MET, Jaen J, Schall TJ, Harigai M, Miyasaka N, <u>Nanki T</u> .	Abrogation of CC chemokine receptor 9 ameliorates collagen-induced arthritis of mice.	Arthritis ResTher	16(5)	445	2014
Fukuda S, Kohsaka H, Takayasu A, Yokoyama W, Miyabe C, Miyabe Y, Harigai M, Miyasaka N, <u>Nanki T</u> .	Cannabinoid receptor 2 as a potential therapeutic target in rheumatoid arthritis.	BMC Musculoskeletal Disord	15(1)	275	2014
Umezawa N, Kohsaka H, <u>Nanki T</u> , Watanabe K, Tanaka M, Shane PY, Miyasaka N.	Successful treatment of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA; formerly Churg-Strauss syndrome) with rituximab in a case refractory to glucocorticoids, cyclophosphamide, and IVIG.	Mod Rheumatol	24(4)	685-687	2014