

Kunieda A. Nagano K. Abe Y. Kamada H. Tsunoda S. Nabeshi H. Yoshikawa T. Tsutsumi Y. Hemopexin as biomarkers for analyzing the biological responses associated with exposure to silica nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett.*7(1): 555, 2012.

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ァ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
バイオ創薬プロジェクト
プロジェクト研究員

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

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、本邦で開発された抗 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抗 IL-6 受容体抗体を開発中である。次世代型抗 IL-6 受容体抗体は、最新の抗体工学技術(Igawa T *et al*, Nat Biotechnol 2010)を用いて現行の抗 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、抗 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、抗 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抗 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。ヒトの関節炎モデルとして霊長類のカニクイザルを用いたコラーゲン誘導性関節炎が用いられているが、今回開発したヒト LRG ELISA キットはカニクイザル血漿 LRG の定量も可能であった。結合活性の高い抗 LRG 抗体を仲のグループに輸送し、関節炎スコアと血漿サンプルは研究代表者の仲のグループに輸送し、仲のグループにて樹立された LRG の ELISA システムで解析した結果、抗 IL-6 受容体抗体により治療を受ける関節リウマチ患者において、CRP 低値でありながら、疾患活動性(CDAI)にて活動性のある患者を検出できるマーカーとなり得ることが示唆された。また、開発した 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、本邦で開発された抗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抗IL-6受容体抗体を開発中である。次世代型抗IL-6受容体抗体は、最新の抗体工学技術(Igawa T *et al*, Nat Biotechnol 2010)を用いて現行の抗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、抗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、抗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。

本研究では次世代型抗IL-6受容体抗体について、血中LRG濃度が疾患活動性を把握する上でCRPよりも有用性が高いことを明らかにすることを目的とした。そのために、まず関節炎の動物モデルを用いて、LRGの疾患活動性マーカーとしての有用性を検証する事とした。次世代型抗IL-6受容体抗体がカニクイザルにおいても抗IL-6受容体阻害活性を示すことから、カニクイザルコラーゲン関節炎モデルを作成し、次世代型抗IL-6受容体抗体投与時の関節炎スコアと血漿サンプルを継時

的に収集した。

続いて、ヒトLRGのnativeな立体構造を認識するモノクローナル抗体の開発、及び、高感度なELISAシステムの構築を試みた。さらに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) 試料

カニクイザル(雌、3-5歳、中国産)を使用した。

(2) カニクイザルコラーゲン関節炎モデルの作成

カニクイザルコラーゲン関節炎モデルは、ウシII型コラーゲン溶解液と等量の Freund 完全アジュバントを混合して作製したエマルジョンを初回感作として背部皮内及び尾根部皮内に接種し、この3週間後同様の方法にて2回目感作を行うことにより作成した。

関節炎スコアの評価は麻酔下で以下の腫脹評価基準に従ってブラインドで行った。中手指節関節、近位指節間関節、遠位指節間関節、手関節、足関節、肘関節、膝関節の腫脹レベルの評価を行った(計64カ所)。

スコア0:異常なし

スコア1:腫脹は目視では認められないが、触診で検出される

スコア2:腫脹は目視でわずかに認めら、触診で検出される

スコア3:腫脹は目視ではっきりと認められる。

スコア4: 関節の強直

(3) 薬剤投与

次世代型IL-6受容体抗体の調製は過去に報告した方法に準じて調製した(Igawa T *et al*, Nat Biotechnol 2010)。コントロール群

には溶媒を用いた。関節炎を発症したカニクイザルに溶媒又は 30 mg/kg の次世代型 IL-6 受容体抗体を初回感作後 30 日目から 2 週に 1 回の割合で計 3 回皮下投与した。

血液は大腿静脈から採血し、EDTA-2K を加えることで血液の凝固を阻害することで血漿サンプルを調製した。血漿サンプルは-85℃で保存した。

(4) 抗原タンパク質の調製

ヒト LRG-FLAG/His 遺伝子を CHO 細胞に遺伝子導入し、安定発現株を樹立した。培養上清を ANTI-FLAG® M2 Affinity Gel (Sigma-Aldrich) に通し、樹脂を洗浄後にヒト LRG-FLAG/His タンパク質を FLAG ペプチドで競合的に溶出した。溶出したタンパク質溶液をゲル濾過精製するとともに、PBS にバッファー交換した。カニクイザル LRG-FLAG/His タンパク質も同様の方法にて精製した。

(5) ヒト LRG に対する抗体の作製

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。

サンドイッチ ELISA では、2 種類の抗体を組み合わせる必要があるが、2 種類ともウサギモノクローナル抗体であると、検出が困難となる。そこで、効率的にサンドイッチ ELISA システムを開発できるように、それぞれのクローン(ウサギモノクローナル抗体)について、Fc 領域をヒト IgG1 型に変換したものを作成し、固相化用抗体にはヒト IgG1 型、検出用抗体にはウサギ IgG 型抗体を使用した。

(6) 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。

(7) 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

D-1. 次世代型 IL-6 受容体抗体投与時のコラーゲン関節炎カニクイザル血漿サンプルの収集

ウシ II 型コラーゲン溶解液と等量の Freund 完全アジュバントを混合して作製したエマルジョンを皮内に接種し、3 週間後に 2 回目感作することで、カニクイザルコラーゲン関節炎モデルを作成した。血漿サンプルについて、血液検査を行った。本研究において収集された血漿サンプルの一部は研究代表者

の仲のグループへ輸送した。血漿サンプル中の LRG 濃度の定量結果と疾患活動性スコアとの相関関係については、研究代表者の項を参照。

D-2. ヒト LRG モノクローナル抗体の開発と ELISA システムの構築

精製した遺伝子組み換えヒト LRG タンパク質をウサギに免疫し、LRG に対して高い結合活性を有する抗体を 94 種類選抜した。これらの抗体の定常領域をウサギ型とヒト型に組み換えた抗 LRG 抗体を調製し、サンドイッチ ELISA を効率良く開発できるように全抗体の競合 ELISA を実施した。選抜した抗体を用いて、ヒト LRG を検出できる ELISA システムの構築に成功し、同様にカニクイザルの LRG も検出できることを明らかにした (図 1、図 2 参照)。

D-3. LRG の ELISA システムを用いた潰瘍性大腸炎糞便検体および全身性エリテマトーデス尿検体中の LRG の定量

ヒト LRG に対するモノクローナル抗体を複数種類開発した。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なった。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 3)。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 4)。

E. 結論

カニクイザルを用いたコラーゲン関節炎モデルに対し、次世代型 IL-6 受容体抗体投与時における血漿を採取し、これらの検体を研究代表者の仲のグループへ輸送し、解析を実施した。仲のグループにて独自に開発された LRG の ELISA システムを用いて次世代型 IL-6 受容体抗体投与時の血中 LRG 濃度を定量した結果、血中 LRG 濃度が関節炎スコアと相関し、CRP よりも LRG の方が関節炎スコアと強く相関した事から、血中 LRG 濃度が次世代型 IL-6 受容体抗体投与時の疾患活動性マーカーとなり得る事が示唆された。

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 システムとは異なり、感度も向上している。抗 IL-6 受容体抗体治療時の関節リウマチ患者血清中の LRG の定量は、研究代表者の仲のグループが行っているが、CRP 陰性 (CRP < 0.2) でありながら、疾患活動性 (CDAI > 2.8) の患者の一部において LRG 濃度が高値を示しているため、血清 LRG をモニターすることが抗 IL-6 受容体抗体治療時の疾患活動性マーカーとなり得る事を示唆している。

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.
5. Mimoto F, Katada H, Kadono S, Igawa T, Kuramochi T, Muraoka M, Wada Y, Haraya K, Miyazaki T, **Hattori K**. Engineered antibody Fc variant with selectively enhanced FcγRIIb binding over both FcγRIIaR131 and FcγRIIaH131. *Protein Eng Des Sel*. 2013;26:589-598.
6. Igawa T, Maeda A, Haraya K, Tachibana T, Iwayanagi Y, Mimoto F, Higuchi Y, Ishii S, Tamba S, Hironiwa N, Nagano K, Wakabayashi T, Tsunoda H, **Hattori K**. Engineered monoclonal antibody with novel antigen-sweeping in vivo. *PLoS One*. 2013;8:e63236.
7. Sampei Z, Igawa T, Soeda T, Okuyama-Nishida Y, Moriyama C, Wakabayashi T, Tanaka E, Muto A, Kojima T, Kitazawa T, Yoshihashi K, Harada A, Funaki M, Haraya K, Tachibana T, Suzuki S, Esaki K, Nabuchi Y, **Hattori K**. Identification and multidimensional optimization of an asymmetric bispecific IgG antibody mimicking the function of factor VIII cofactor activity. *PLoS One*. 2013;8:e57479.
8. Mimoto F, Igawa T, Kuramochi T, Katada H, Kadono S, Kamikawa T, Shida-Kawazoe M, **Hattori K**. Novel asymmetrically engineered antibody Fc variant with superior FcγR binding affinity and specificity compared with afucosylated Fc variant. *MAbs*. 2013;13:229-236.
9. Ueda O, Tateishi H, Higuchi Y, Fujii E, Kato A, Kawase Y, Wada NA, Tachibe T, Kakefuda M, Goto C, Kawaharada M, Shimaoka S, **Hattori K**, Jishage K. Novel genetically-humanized mouse model established to evaluate efficacy of therapeutic agents to human interleukin-6

receptor. Scientific Reports. 2013;3:1196.

該当無し。

10. Kitazawa T, Igawa T, Sampei Z, Muto A, Kojima T, Soeda T, Yoshihashi K, Okuyama-Nishida Y, Saito H, Tsunoda H, Suzuki T, Adachi H, Miyazaki T, Ishii S, Kamata-Sakurai M, Iida T, Harada A, Esaki K, Funaki M, Moriyama C, Tanaka E, Kikuchi Y, Wakabayashi T, Wada M, Goto M, Toyoda T, Ueyama A, Suzuki S, Haraya K, Tachibana T, Kawabe Y, Shima M, Yoshioka A, **Hattori K**. A bispecific antibody to factors IXa and X restores factor VIII hemostatic activity in a hemophilia A model. Nat Med. 2012 Sep 30;18(10):1570-4.

G-2. 学会発表

1. 54th ASH-American Society of Hematology (2012). Generation of a Novel Bispecific Antibody (ACE910) Against Activated Factor IX and Factor X Mimicking the Function of Factor VIII Cofactor Activity. Igawa T, Sampei Z, Soeda T, Okuyama-Nishida, Moriyama C, Wakabayashi T, Tanaka E, Muto A, Kojima T, Kitazawa T, Yoshihashi K, Harada A, Funaki M, Haraya K, Tachibana T, , Suzuki S, Esaki K, Nabuchi Y, **Hattori K**,

2. 54th ASH-American Society of Hematology(2012).Hemostatic Effect of a Novel Bispecific Antibody (ACE910) Against Activated Factor IX and Factor X in an Acquired Hemophilia A Model. Muto A, Kitazawa T, Yoshihashi K, , Takeda M, Soeda T, Igawa T, Sampei Z, Sakamoto Y, Okuyama-Nishida Y, Saito H, Kawabe Y, Shima M, Yoshioka A, **Hattori K**,

H. 知的財産権の出願・登録状況

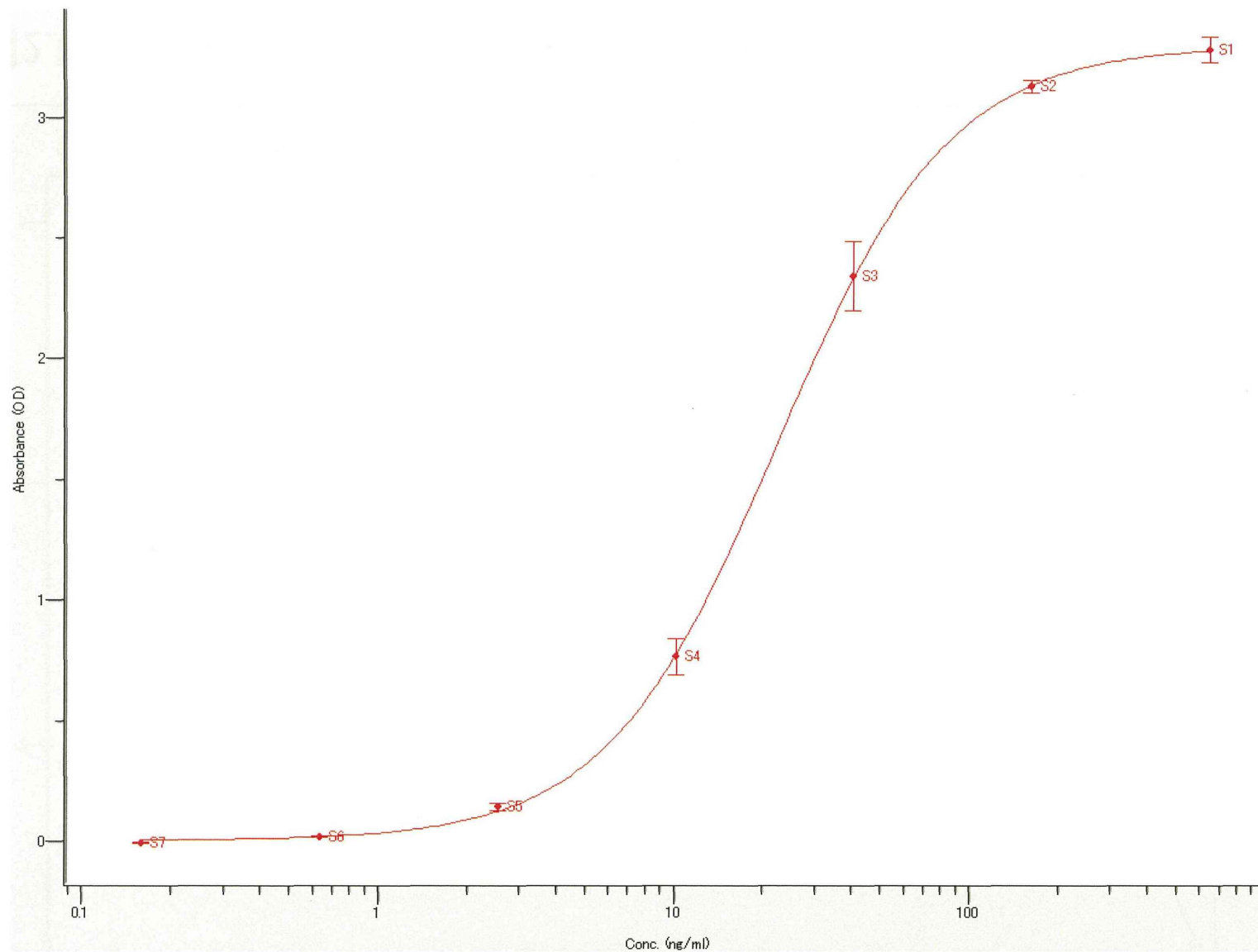


図1.ヒトLRGモノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISAシステムによるヒトLRGの検量線

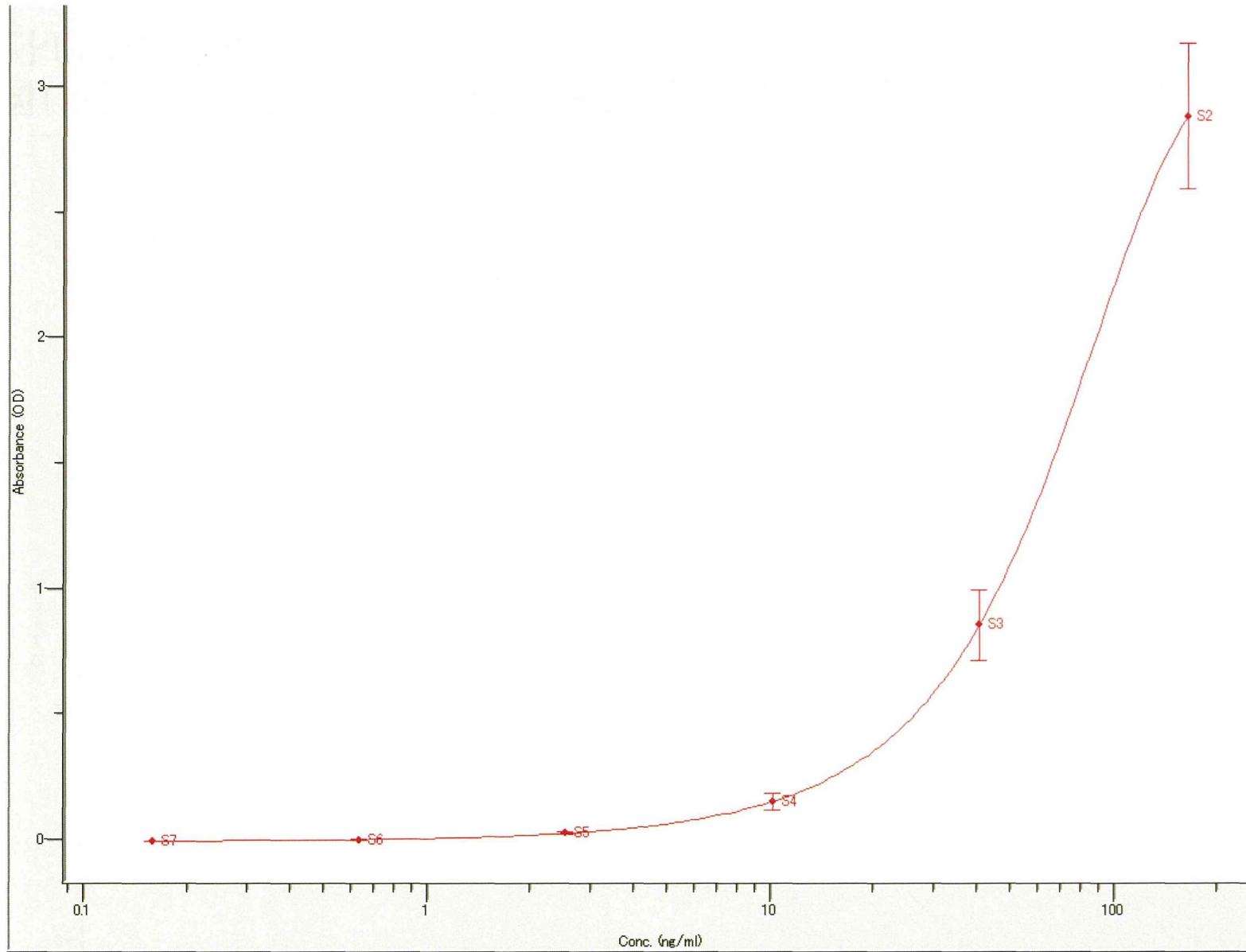


図2.ヒトLRGモノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISAシステムによるカニクイザルLRGの検量線

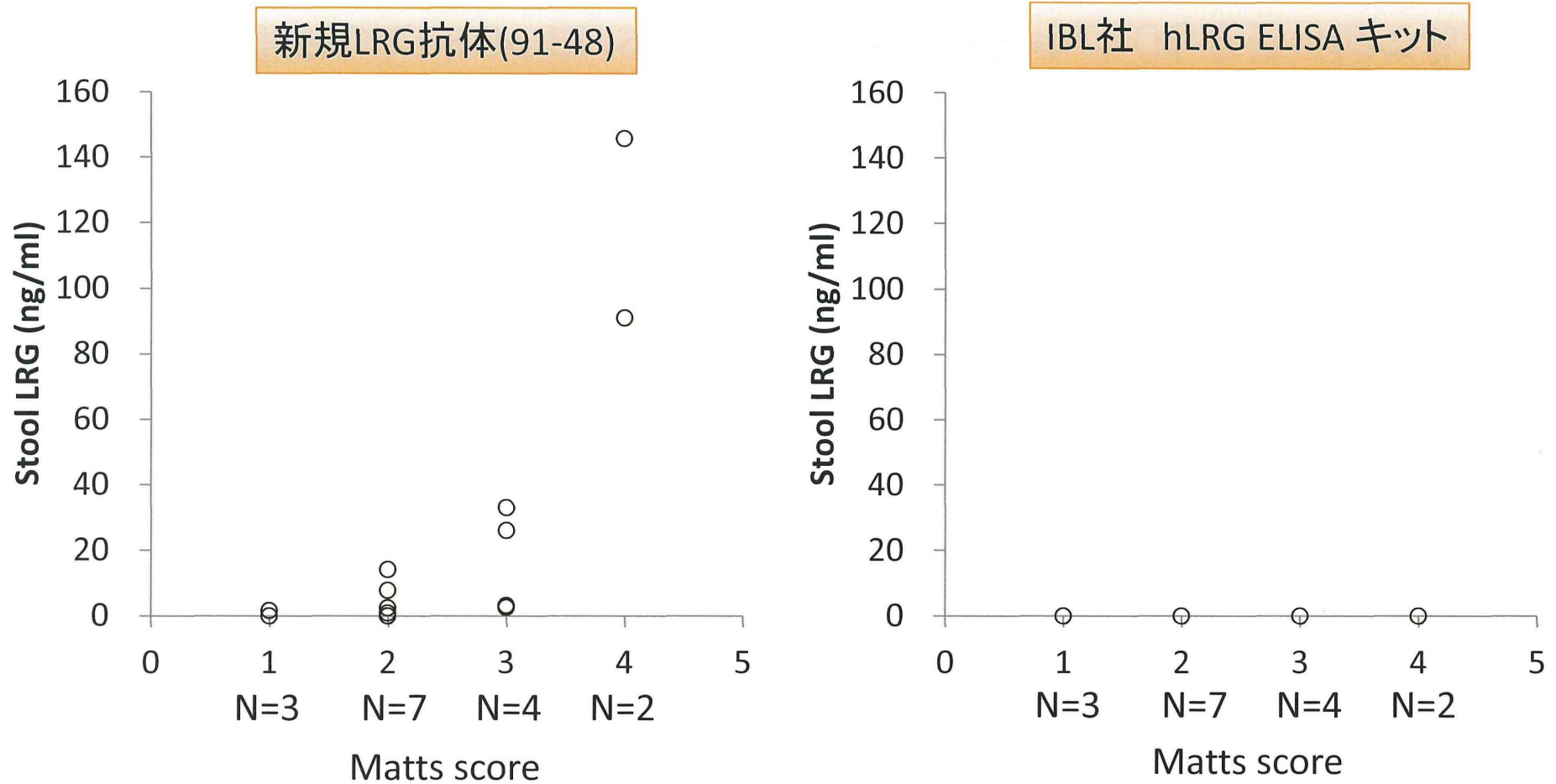


図3. 新規に開発したLRGのELISAキットは潰瘍性大腸炎患者糞便中のLRGも定量可能である

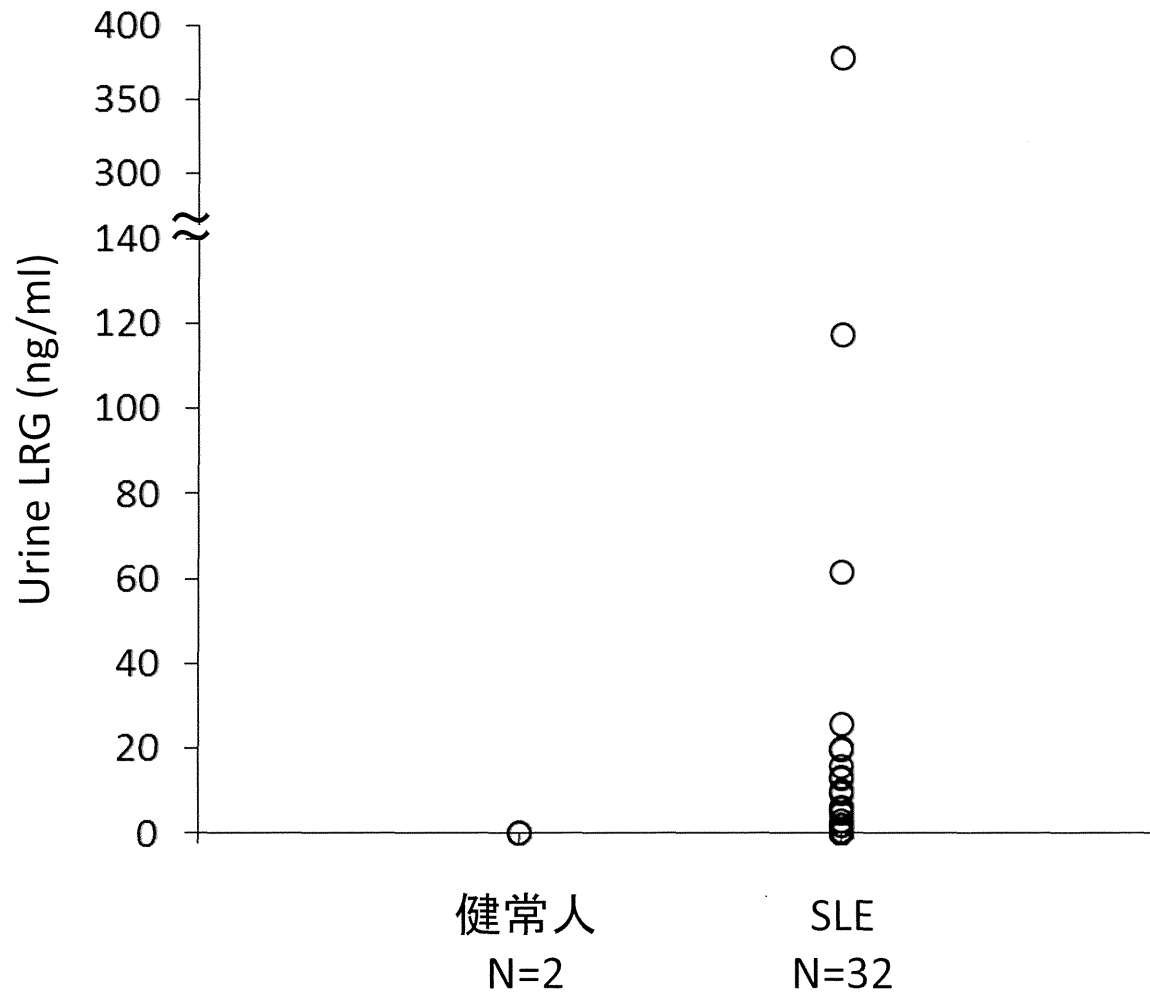


図4.新規に開発したLRGのELISAキットはSLE患者尿中LRGも定量可能である

平成24年度～平成26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	出版年	ページ
Yoshishige Miyabe, Chie Miyabe, Toshihiro Nanki.	Retinoic Acid and Immunity.	Krishnamurti Dakshinamurti, Shyamala Dakshinamurti	Vitamin-Binding Proteins - Functional Consequences.	CRC Press/Taylor & Francis Group	Boca Raton, FL, USA	2013	49-56

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
Azuma K, 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 Modifying the Melanoma Microenvironment.	Pigment Cell Melanoma Res	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
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	Apr15; 134(8)	1796-809	2014
Sadaoka T, Serada S, Kato J, Hayashi M, Gomi Y, <u>Naka T</u> , Yamaniishi 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
Umegaki-Arao N, Tami K, Nimura K, Serada S, <u>Naka T</u> , Nakano H, Katayama I.	Karyopherin alpha2 is essential for rRNA transcription and protein synthesis in proliferative keratinocytes.	PLoS One	8(10)	e76416	2013
Shimada K, Serada S, Fujimoto M, Nomura S, Nakatsuka R, Harada E, Iwahori K, Tachibana I, Takahashi T, Kumanogoh K, Kishimoto T, <u>Naka T</u> .	The molecular mechanism underlying anti-proliferative effect of SOCS-1 in non-small cell lung cancer cells.	Cancer Sci	Nov; 104(11)	1483-91	2013

Takahashi T, Serada S, Ako M, Fujimoto M, Miyazaki M, Nakatsuka R, Ikezoe I, Yokoyama A, Taguchi T, Shimada K, Kurokawa Y, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Takiguchi S, Mori M, Doki Y, <u>Naka T</u> , Nishida T.	New findings of kinase switching in gastrointestinal stromal tumor under imatinib using phosphoproteomic analysis.	Int J Cancer	133(11)	2737-43	2013
Tang H, Serada S, Kawabata A, Ota M, Hayashi E, <u>Naka T</u> , Yamaniishi K, Mori Y.	CD134 is a cellular receptor specific for human herpesvirus-6B entry.	Proc Natl Acad Sci USA	110(22)	9096-9	2013
He P, Kuhara H, Tachibana I, Jin Y, Takeida Y, Tetsumoto S, Minami T, Kohmo S, Hirata H, Takahashi R, Inoue K, Nagatomo I, Kida H, Kijima T, <u>Naka T</u> , Morii E, Kawase I, Kumanogoh A.	Calretinin mediates apoptosis in small cell lung cancer cells expressing tetraspanin CD9.	FEBS Open Bio	2013;3:	225-30	2013
Shinzaki S, Kuroki E, Iijima H, Tatsunaka N, Ishii M, Fujii H, Kamada Y, Kobayashi T, Shibukawa N, Inoue T, Tsujii M, Takeishi S, Mizushima T, Ogata A, <u>Naka T</u> , Plevy SE, Takehara T, Miyoshi E.	Lectin-based Immunoassay for Aberrant IgG Glycosylation as the Biomarker for Crohn's Disease.	Inflamm Bowel Dis	2013 Feb; 19):	321-31	2013
Yokoyama T, Enomoto T, Serada S, Morimoto A, Matsuzaki S, Ueda Y, Yoshino K, Fujita M, Kyo S, Iwahori K, Fujimoto M, Kimura T, <u>Naka T</u> .	Plasma membrane proteomics identifies bone marrow stromal antigen 2 as a potential therapeutic target in endometrial cancer.	Int J Cancer	2013; 132(2):	472-84	2013

Iwahori K, Serada S, Fujimoto M, Ripley B, Nomura S, Mizuguchi H Shimada K, Takahashi T, Kawase I, Kishimoto T, <u>Naka T</u> .	SOCS-1 gene delivery cooperates with cis platin plus pemetrexed to exhibit preclinical antitumor activity against malignant pleural mesothelioma.	Int J Cancer	2013; 132(2):	459-71	2013
Nishioka C, Ikezoe T, Furihata M, Yang J, Serada S, <u>Naka T</u> , Nobumoto A, Kataoka S, Tsuda M, Udaka K, Yokoyama A.	CD34(+) /CD38(-) acute myelogenous leukemia cells aberrantly express CD82 which regulates adhesion and survival of leukemia stem cells.	Int J Cancer	2013; 132(9):	2006-19	2013
Iwahori K, Suzuki H, Kishi Y, Fujii Y, Uehara R, Okamoto N, Kobayashi M, Hirashima T, Kawase I, <u>Naka T</u> . Iwahori K, Suzuki H, Kishi Y, Fujii Y, Uehara R, Okamoto N, Kobayashi M, Hirashima T, Kawase I, <u>Naka T</u> .	Serum HE4 as a diagnostic and prognostic marker for lung cancer.	Tumour Biol	2012; 33(4)	1141-9	2012
Kitaba S, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F, Shima Y, Fujimoto M, Tanaka T, <u>Naka T</u> , Kishimoto T, Katayama I.	Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma.	Am J Pathol	2012; 180(1):	165-76	2012
Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, Fujimoto M, Serada S, <u>Naka T</u> , Katayama I.	Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris.	Pigment Cell Melanoma Res	2012; 25(2):	219-30	2012

Onsuka K, Kotobuki Y, Shiraishi H, Serada S, Ohta S, Tanemura A, Yang L, Fujimoto M, Arima K, Suzuki S, Murota H, Toda S, Kudo A, Conway S J, Narisawa Y, Katayama I, Izuhara K, <u>Naka T.</u>	Periostin, a matricellular protein, accelerates cutaneous wound repair by activating dermal fibroblasts.	Exp Dermatol	2012; 21(5):	331-6	2012
Serada S, Fujimoto M, Terabe F, Iijima H, Shinzaki S, Matsuzaki S, Ohkawara T, Nezu R, Nakajima S, Kobayashi T, Plevy S E, Takehara T, <u>Naka T.</u>	Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis.	Inflamm Bowel Dis	2012; 18(11):	2169-79	2012
Souma Y, Nishida T, Serada S, Iwahori K, Takahashi T, Fujimoto M, Ripley B, Nakajima K, Miyazaki Y, Mori M, Doki Y, Sawa Y, <u>Naka T.</u>	Antiproliferative effect of SOCS-1 through the suppression of STAT3 and p38 MAPK activation in gastric cancer cells.	Int J Cancer	2012; 131(6):	1287-96	2012
Tajiri K, Imanaka-Yoshida K, Matsubara A, Tsujimura Y, Hiroe M, <u>Naka T.</u> , Shimojo N, Sakai S, Aonuma K, Yasutomi Y.	Suppressor of cytokine signaling 1 DNA administration inhibits inflammatory and pathogenic responses in autoimmune myocarditis.	J Immunol	2012; 189(4):	2043-53	2012

Uebi T, Itoh Y, Hatano O, Kumagai A, Sanosaka M, Sasaki T, Sasagawa S, Doi J, Tatsumi K, Mitamura K, Morii E, Aozasa, K, Kawamura T, Okumura M, Nakae J, Takikawa H, Fukusato T, Koura M, Nish M, Hamsten A, Silveira A, Bertorello A M, Kitagawa K, Nagaoka Y, Kawahara H, Tomonaga T, <u>Naka T</u> , Ikegawa S, Tsumaki N, Matsuda J, Takemori H.	Involvement of SIK3 in glucose and lipid homeostasis in mice . e37803.	PLoS One	2012; 7(5)	e37803	2012
Yang L, Serada S, Fujimoto M, Terao M, Kotobuki Y, Kitaba S, Matsui S, Kudo A, <u>Naka T</u> , Murota H, Katayama I.	Periostin Facilitates Skin Sclerosis via PI3K/Akt Dependent Mechanism in a Mouse Model of Scleroderma.	PLoS One	2012; 7(7)	e41994	2012
世良田聡、藤本穰、 <u>仲哲治</u>	Serum leucine-rich alpha-2 glycoprotein is a disease activity biomarker in ulcerative colitis.	INTESTINE	17(1)	107-109	2013
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, observational 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> , Mikoshiha K, and Tsubota T.	Mice lacking inositol 1,4,5- triphosphate receptors exhibit dry eye.	Plos One	9:e99205		2014
Tsuboi H, Hagiwara S, Asashima H, Umeha ra H, Kawakami A, Na kamura H, Sano H, Ts ubota K, Ogawa Y, Ta kamura E, Saito I, I noue H, Nakamura S, Moriyama M, <u>Takeuchi T</u> , Tanaka Y, Hirata S, Mimori T, Matsum oto I, and Sumida T.	Validation of differ ent sets of criteria for the diagnosis o f Sjogren' s syndrom e in Japanese patien ts.	Mod Rheum	23	219-25	2013

<u>Takeuchi T</u> and Suzuki K.	CD247 variants single nucleotide polymorphisms observed in systemic lupus erythematosus.	Rheumatology	52(9)	1551-5	2013
<u>Takeuchi T</u> , Matsubara T, Nitobe T, Suematsu E, Ohta S, Honjyo S, Abe T, Yamamoto A, Miyasaka N, and The Japan Abatacept Study Group.	Phase II dose-response study of abatacept in Japanese patients with active rheumatoid arthritis with inadequate response to methotrexate.	Mod Rheum	23(2)	226-35	2013
<u>Takeuchi T</u> , Harigaya M, Tanaka Y, Yamanka H, Ishiguro N, Yamamoto K, Miyasaka N, Koike T, Kanazawa M, Ohba T, Yoshinari T, Baker D, and the GO-MONO study group.	Golimumab monotherapy in Japanese patients with active rheumatoid arthritis despite prior treatment with disease-modifying anti-rheumatic drugs: results of the Phase 2/3, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled GO-MONO study through 24 weeks	Ann Rheum Dis	72(9)	1488-95	2013
<u>Takeuchi T</u> , Miyasaka N, Zang C, Alvarez D, Fletcher T, Wajdu la J, Yuasa H, and Vlahos B.	A phase 3 randomized, double-blind, multicenter comparative study evaluating the effect of etanercept versus methotrexate on radiographic outcomes, disease activity and safety in Japanese subjects with rheumatoid arthritis.	Mod Rheum	23(4)	623-33	2013
Tanaka Y, Yamanaka H, Saito K, Iwata S, Miyagawa I, Seto Y, Momohara S, Nagasawa H, Kamada H, Kaneko Y, Izumi K, Amano K, <u>Takeuchi T</u> .	Structural damages disturb functional improvement in patients with rheumatoid arthritis treated with etanercept.	Mod Rheum	22	186-94	2012