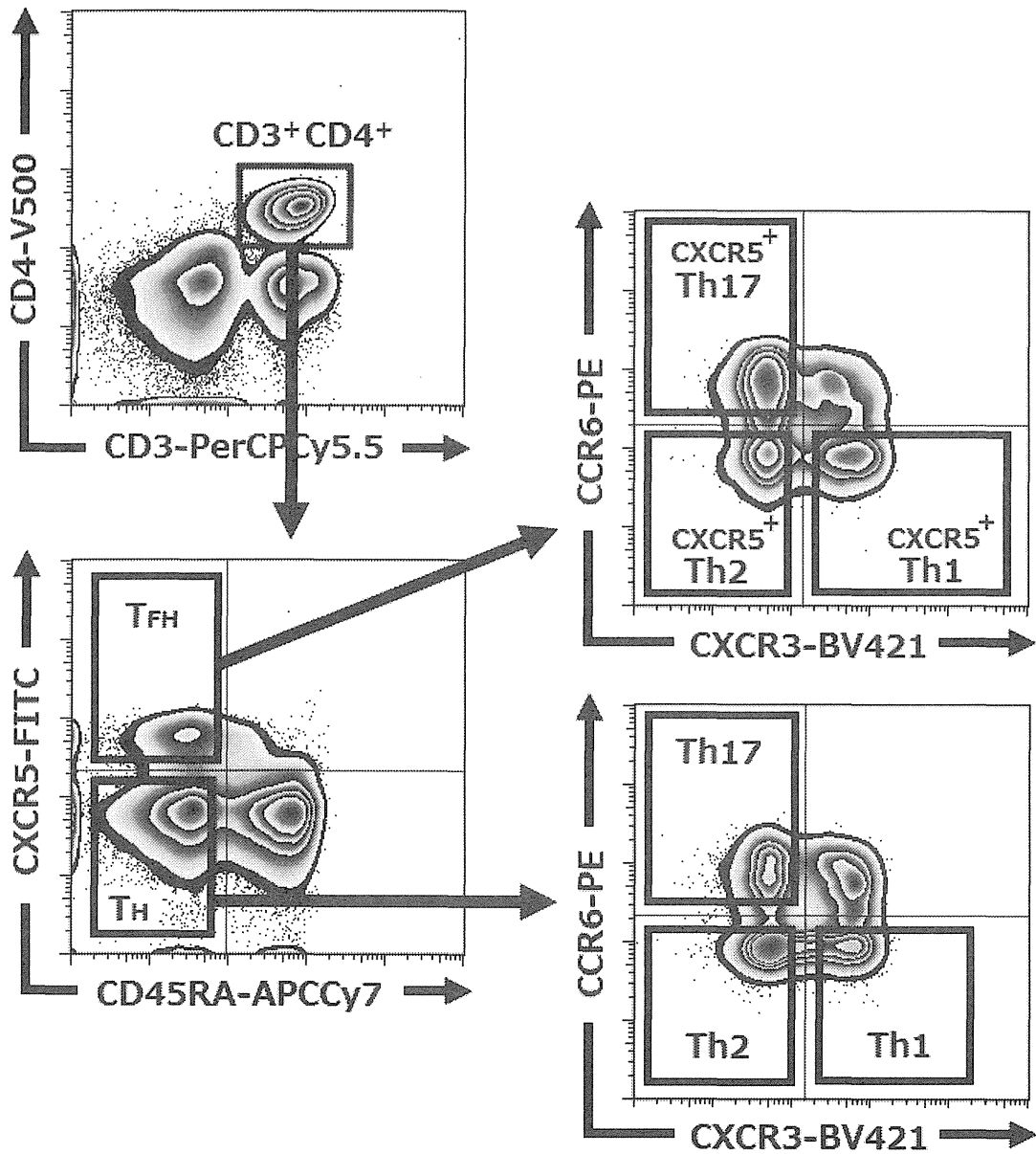


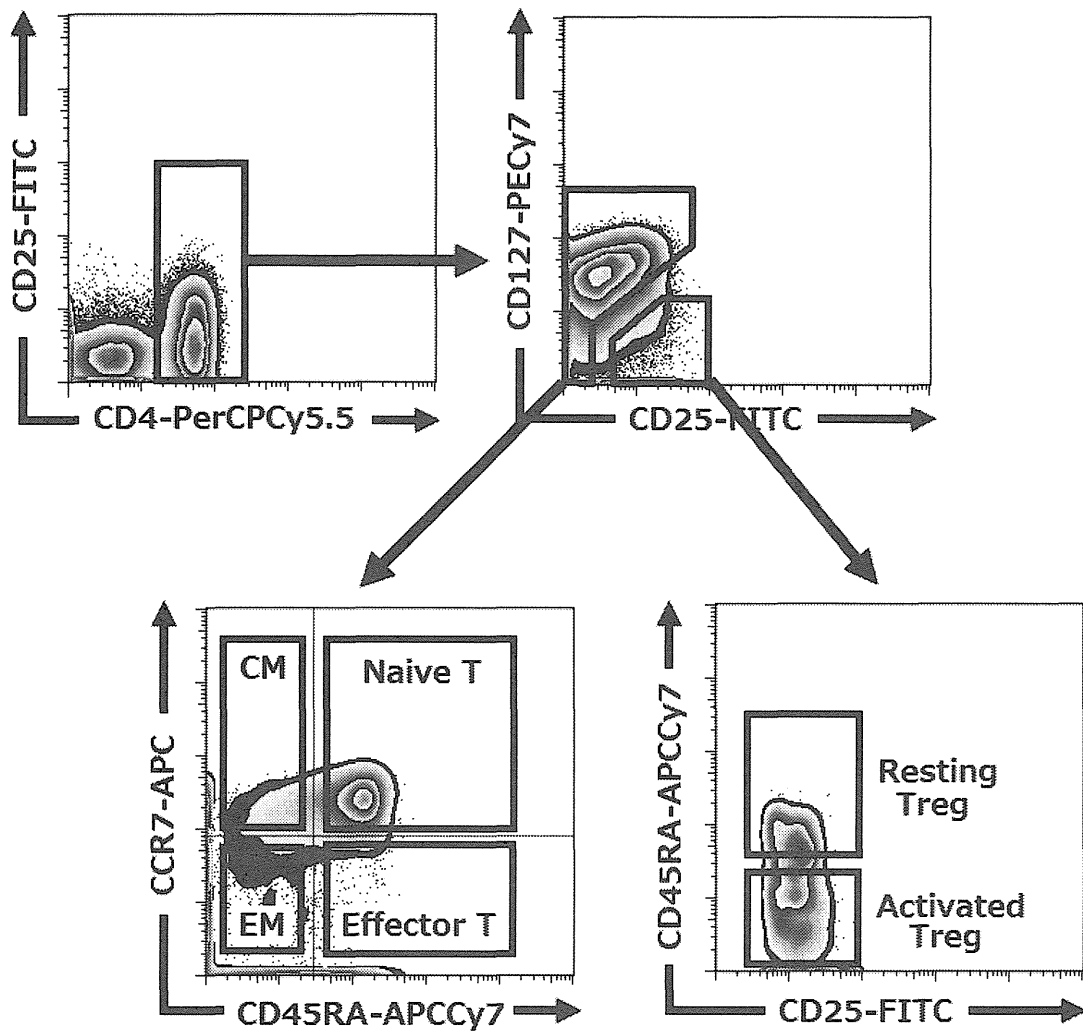
● Th cell パネル展開

- ・ 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



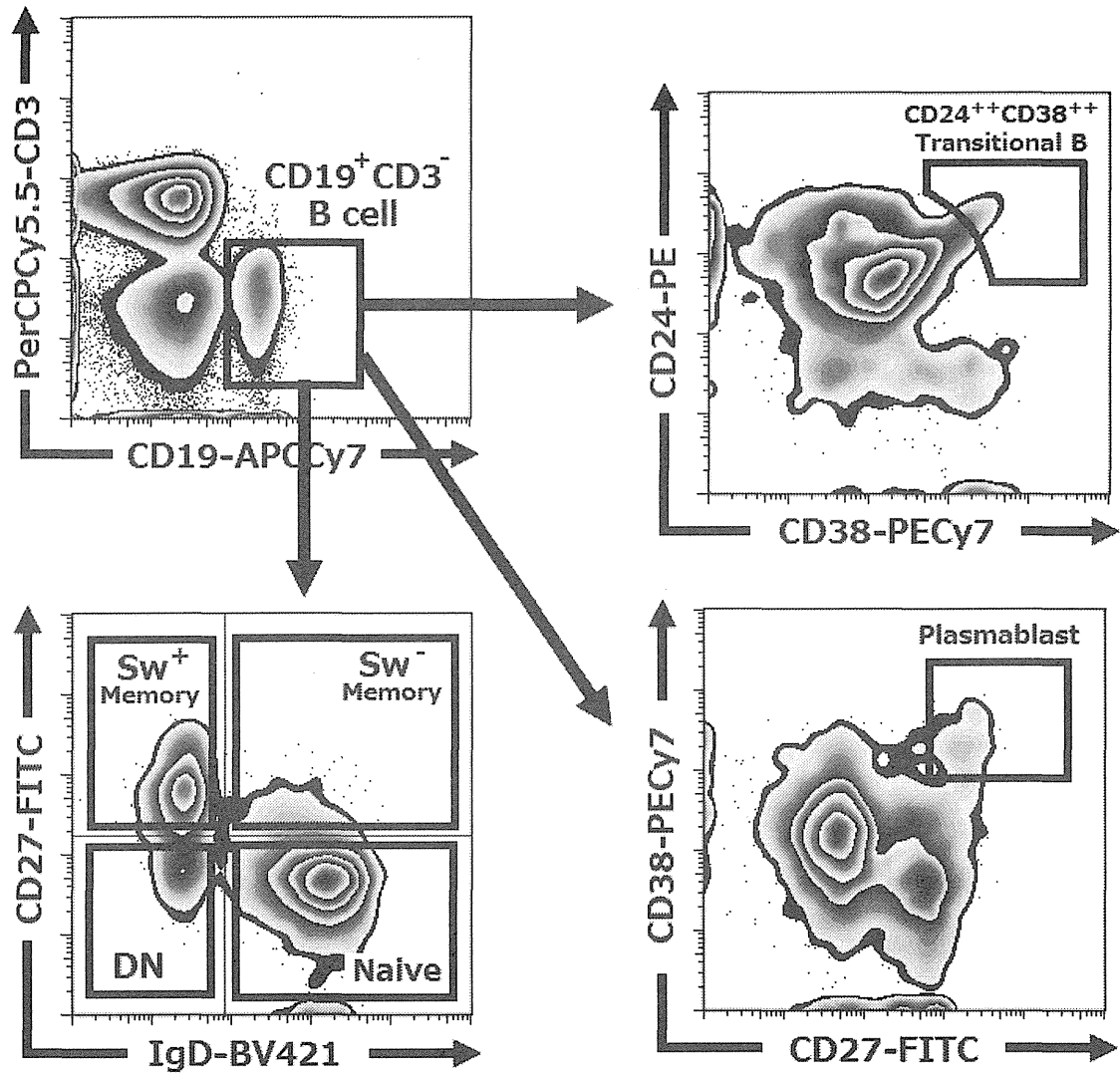
● Treg cell パネル展開

- ・ 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.



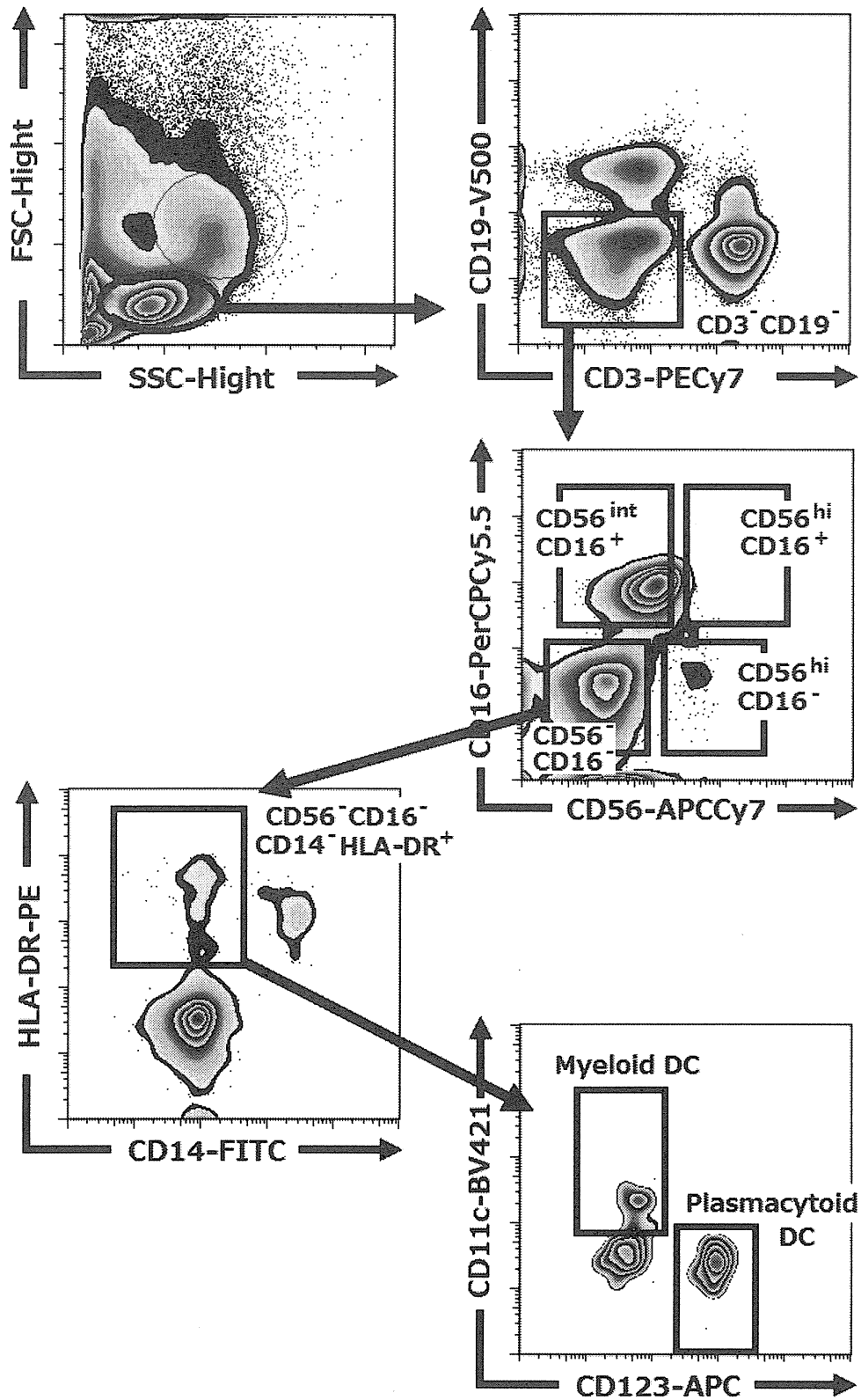
● B cell パネル展開

- 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。



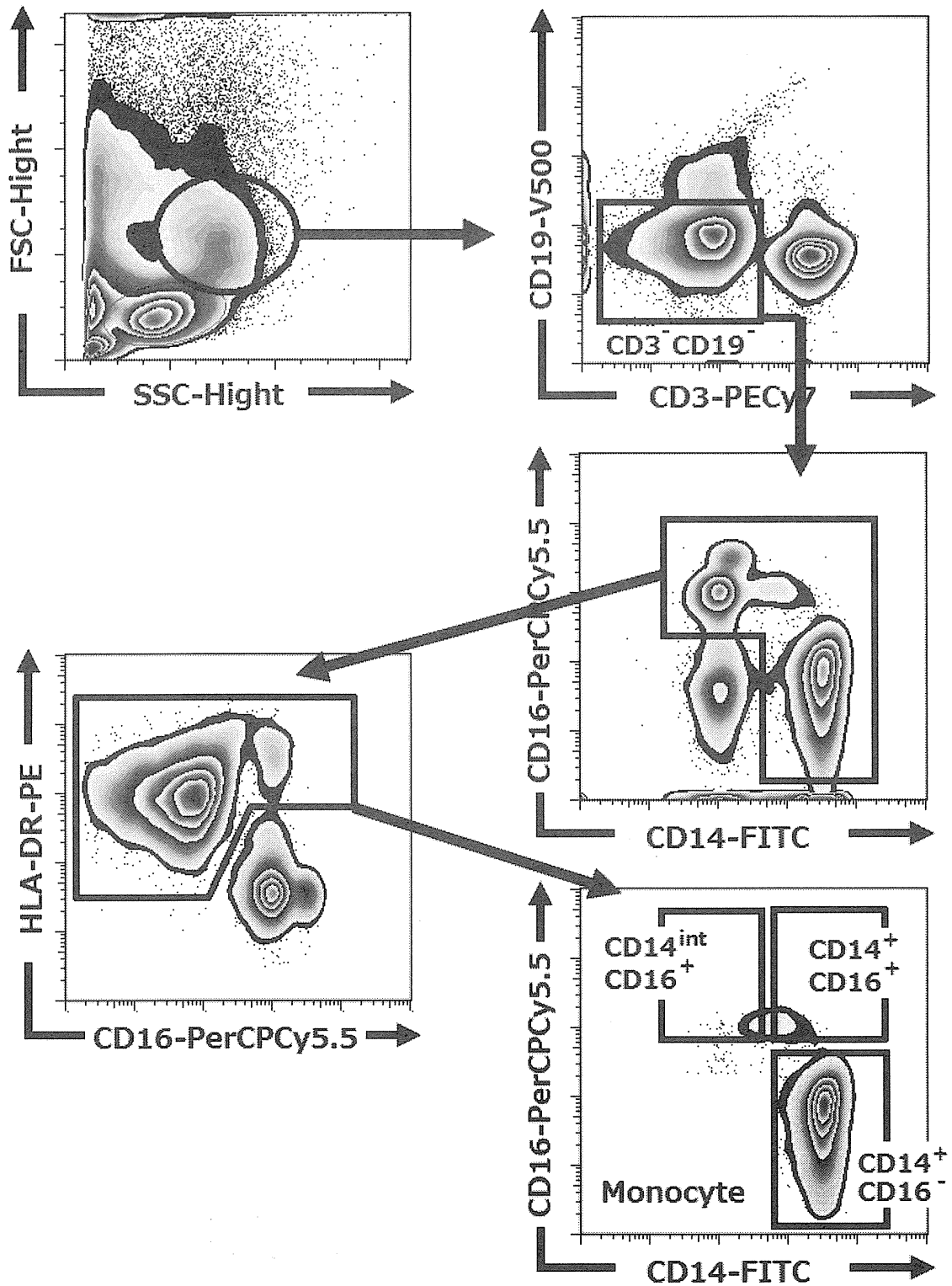
● DC, Monocyte, NK cell パネル展開 [NK cell, DC]

- ・ 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^{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

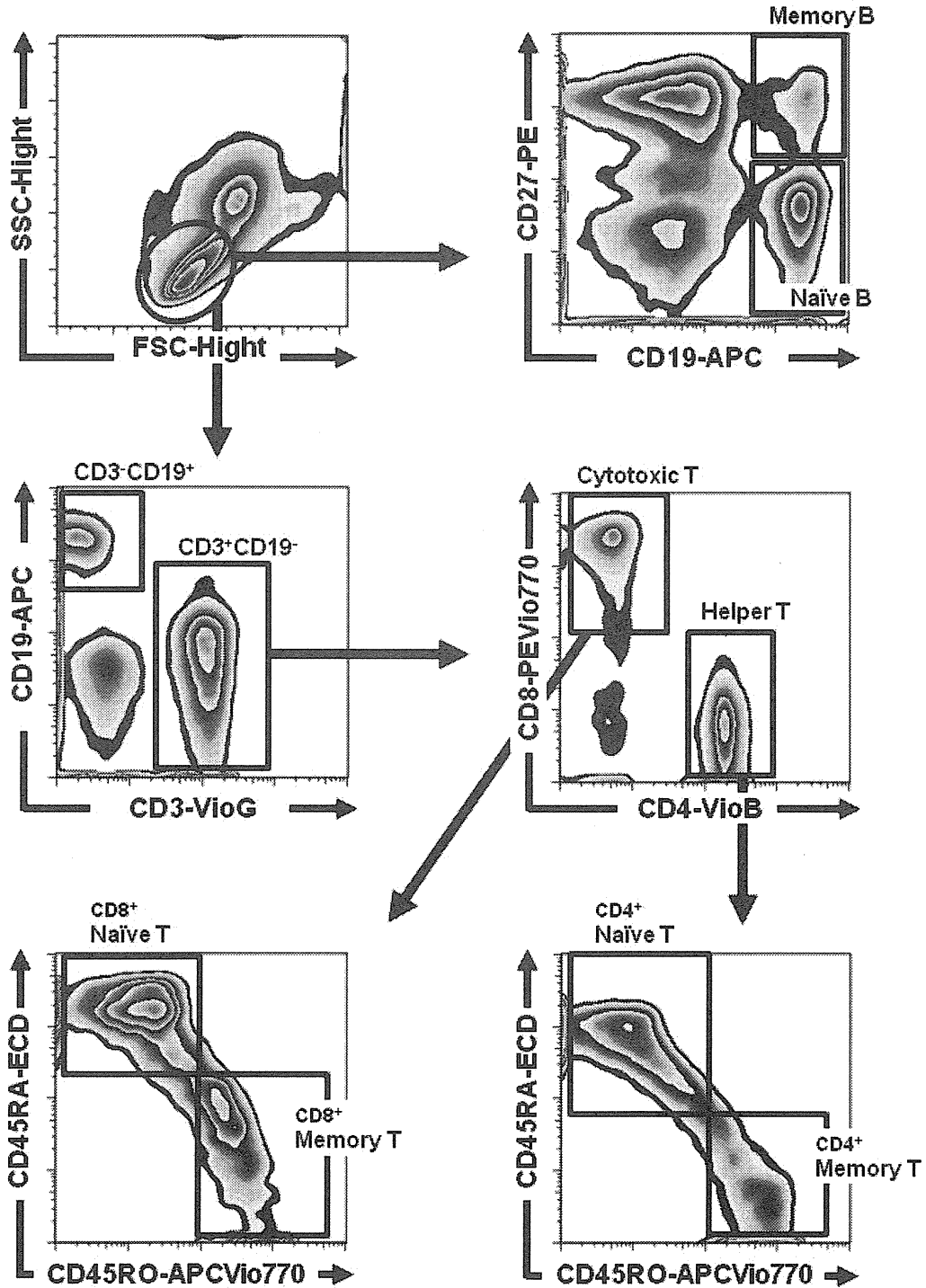
色素	PBMC パネル T/ B/ NK/ Mono	DC パネル pDC/ mDC	B1 パネル Immature/ Transitional/ B1	B3 パネル memory/ IgGAM
FITC	CD16 (3G8)	Lineage cocktail 1 (BD #340546)	CD38 (IB6)	IgD (IA6-2)
PE	CD27 (1A4CD27)	CD123 (AC145)	CD24 (32D12)	IgA (IS11-8E10)
ECD	CD45RA (2H4LDH11LDB9)	HLA-DR (Immu-357)	-	-
PC5/Cy5.5	CD56	CD11c (BU15)	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)

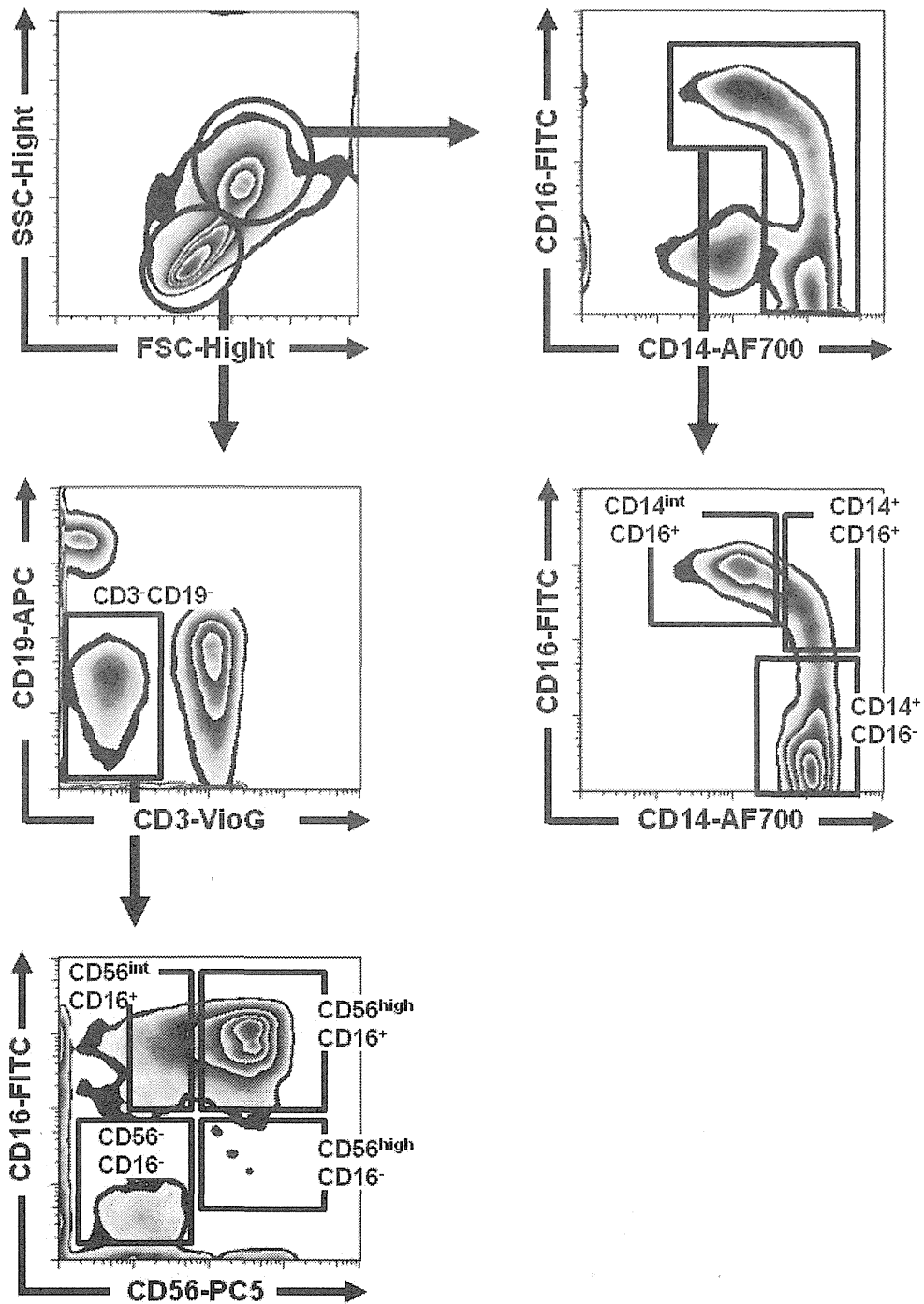
● PBMC パネル展開 [T cell, B cell]

- 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。



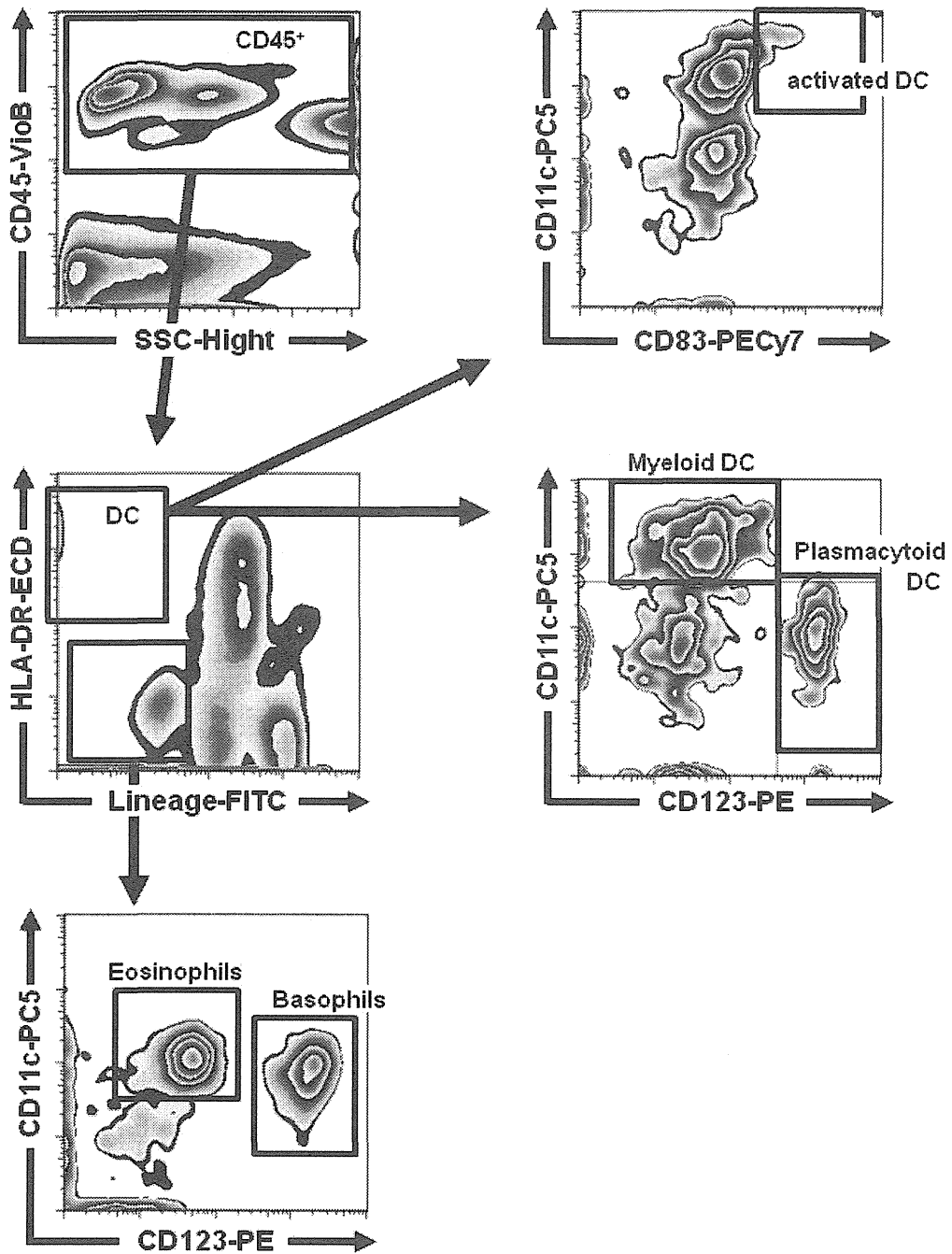
● PBMC パネル展開 [NK cell, Monocyte]

- ・ 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。



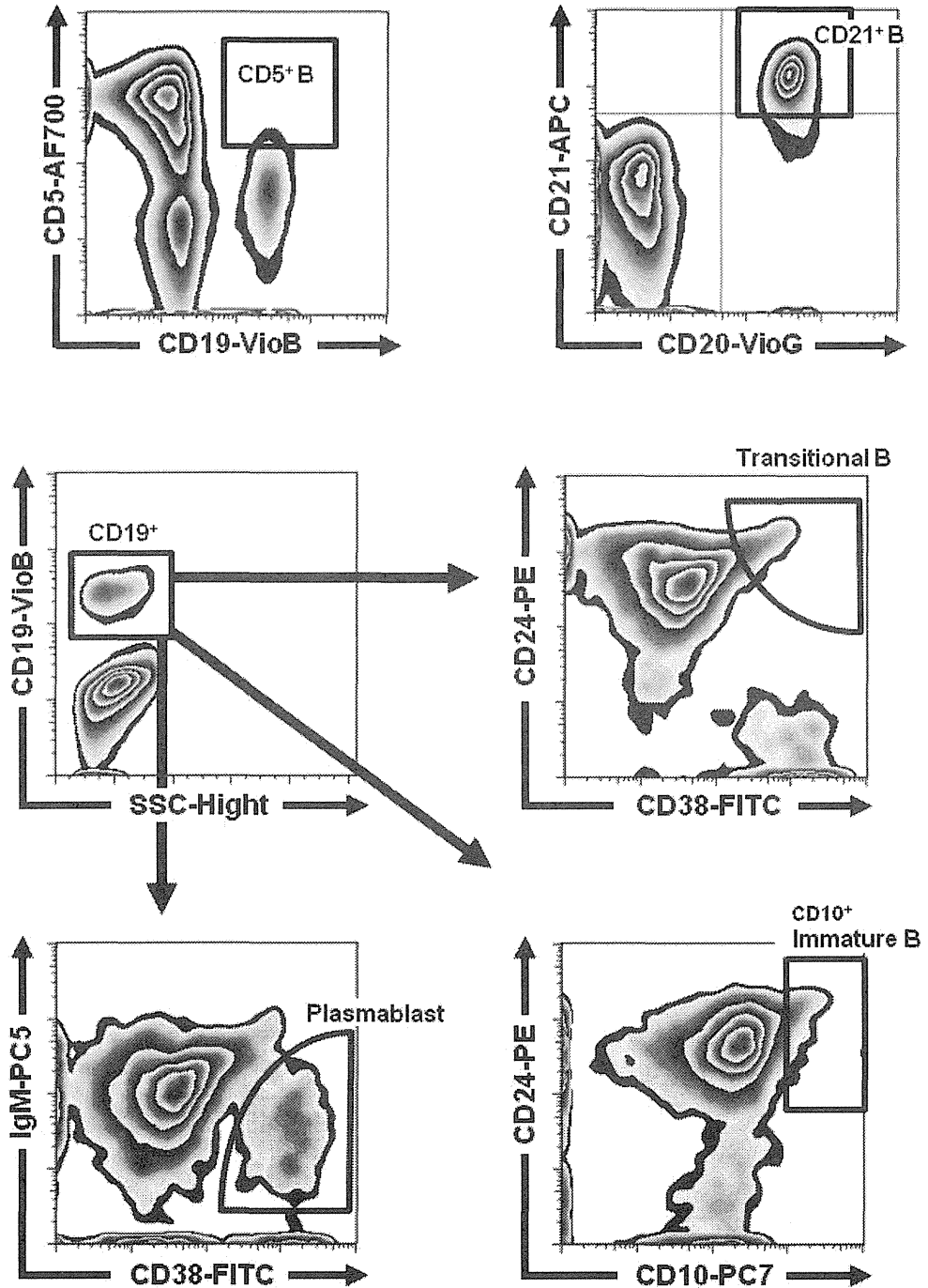
● DC パネル展開

- ・ 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。



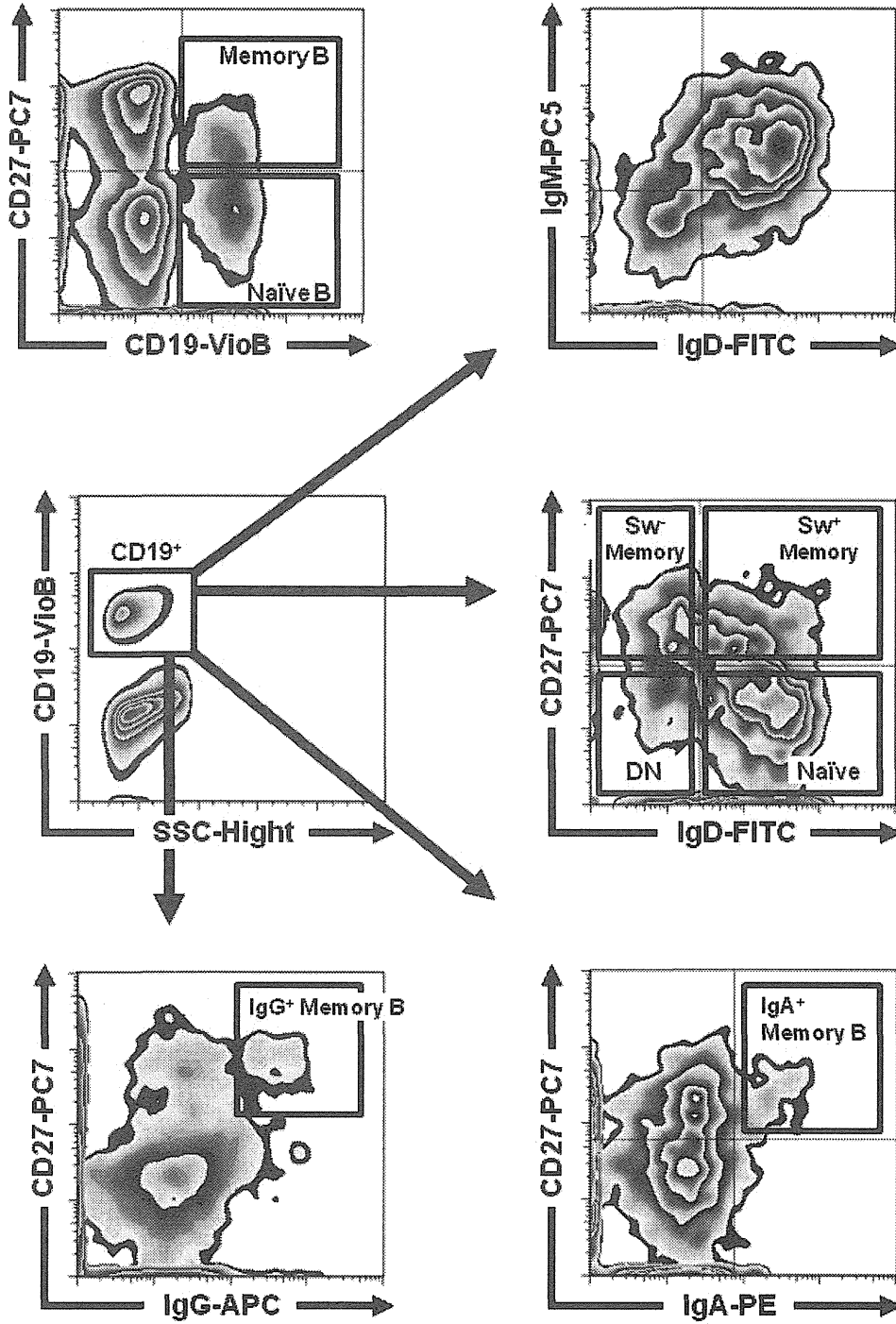
● B1 パネル展開

- 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。



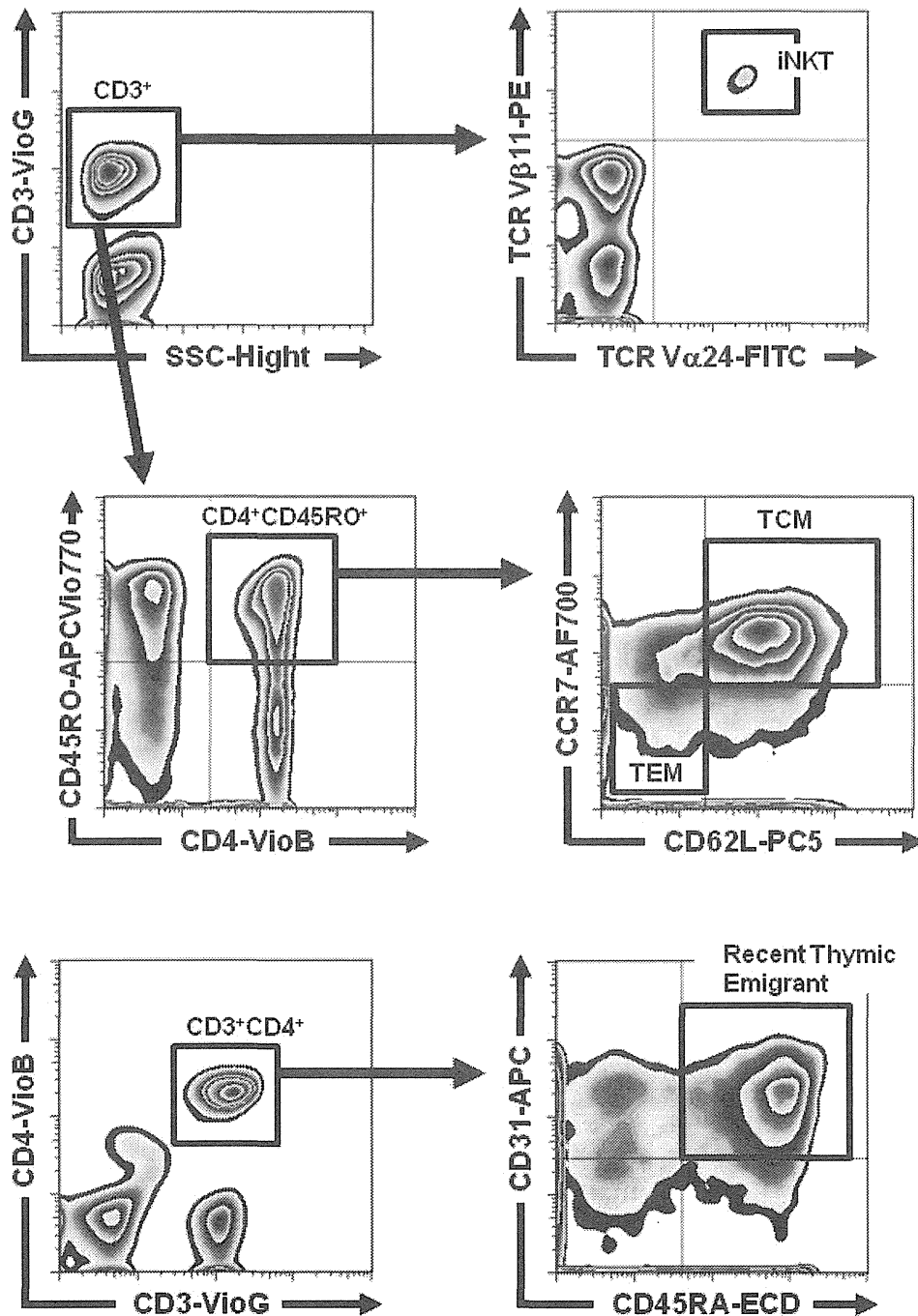
● B3 パネル展開

- ・ 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。



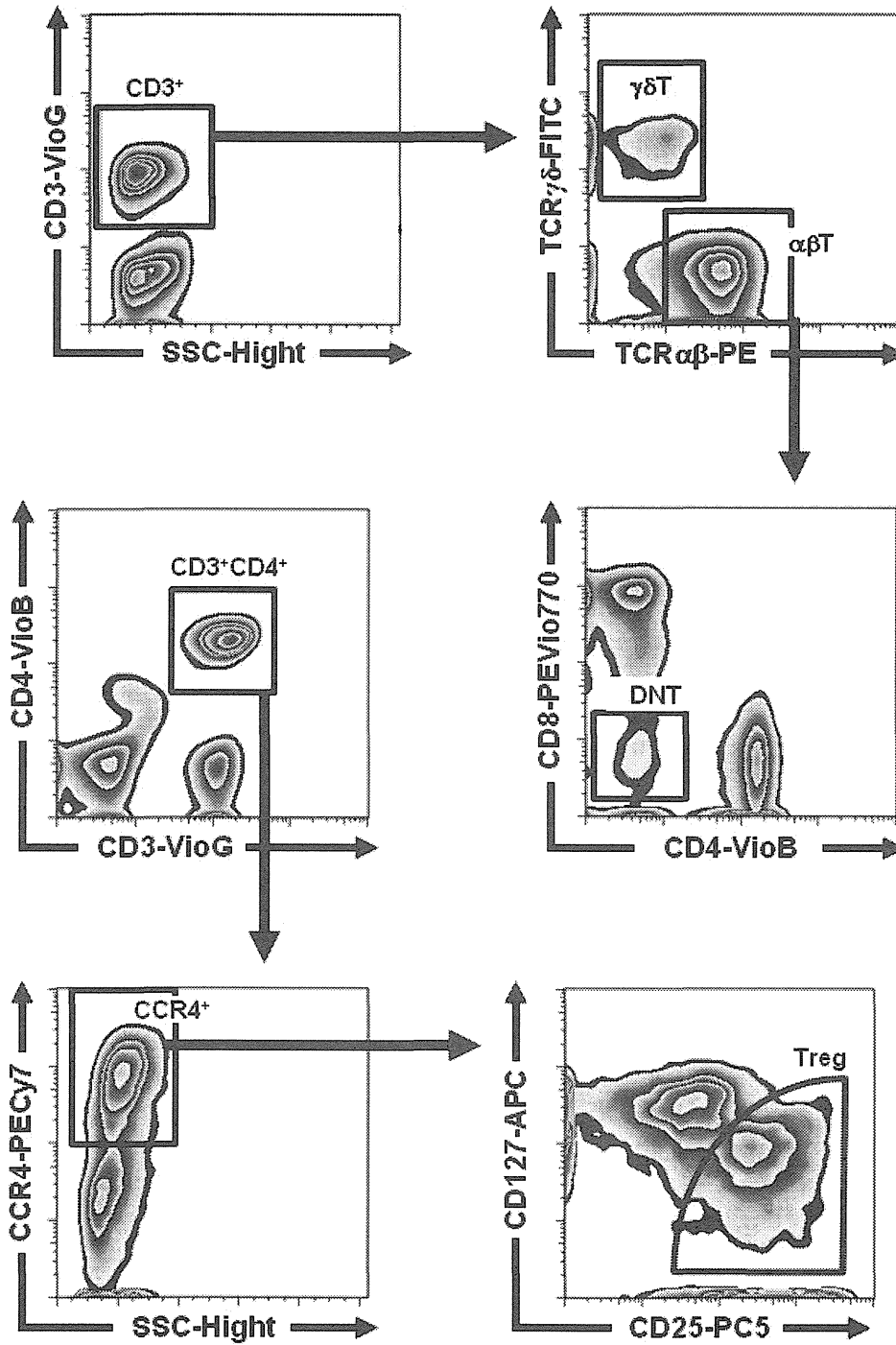
● T1 パネル展開

- 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。



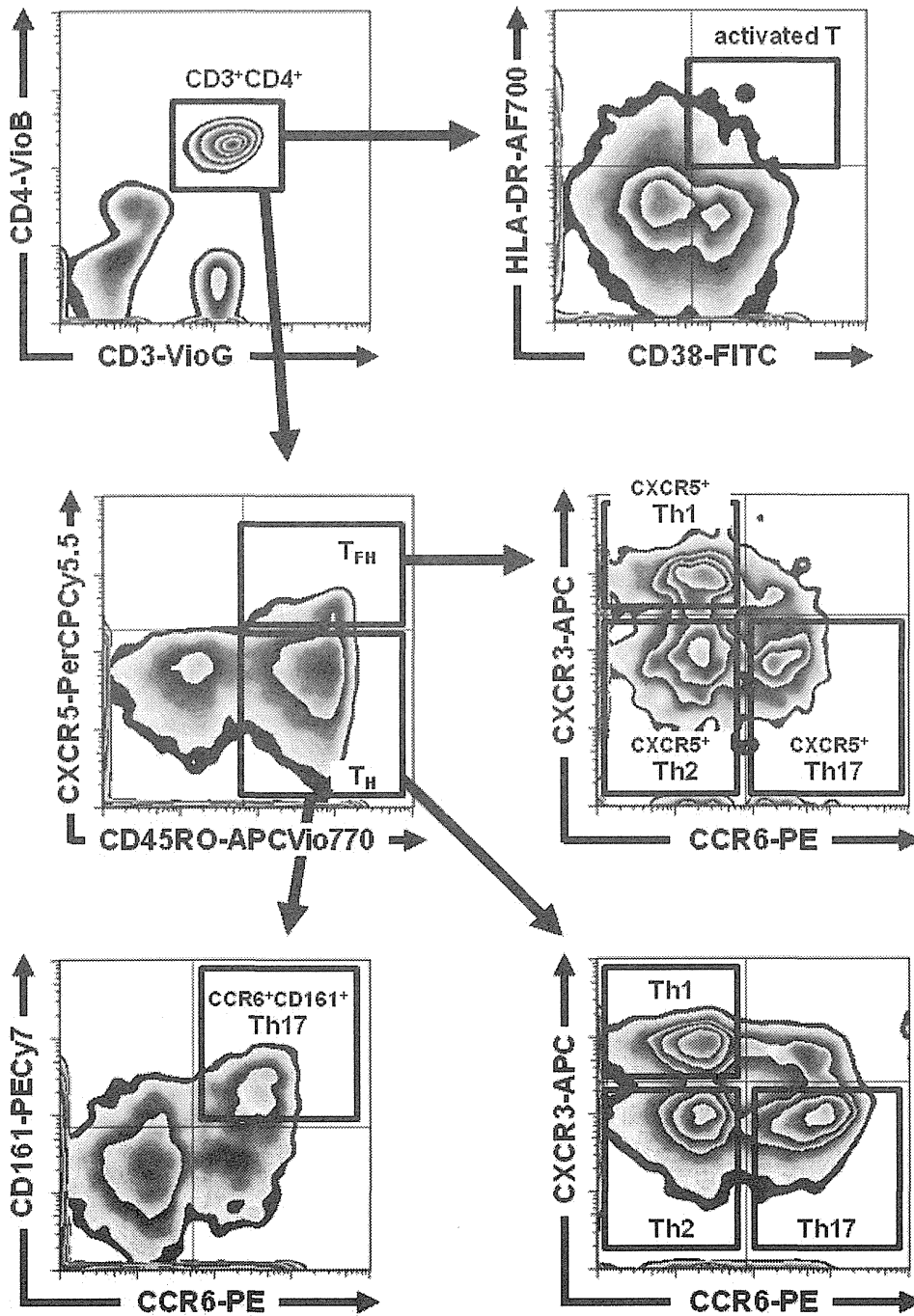
● T2 パネル展開

- 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. 刊行に関する一覧

2012-2014年度（関連論文）

	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	年
	Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K, Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed O W, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Yamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K.	A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese.	PLoS Genet	8:e1002455		2012
	Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, Suzuki A, Kawaguchi T, Stahl EA, Kurreeman FA, Nishida N, Ohmiya H, Myouzen K, Takahashi M, Sawada T, Nishioka Y, Yukioka M, Matsubara T, Wakitani S, Teshima R, Tohma S, Takasugi K, Shimada K, Murasawa A, Honjo S, Matsuo K, Tanaka H, Tajima K, Suzuki T, Iwamoto T, Kawamura Y, Tani H, Okazaki Y, Sasaki T, Gregersen PK, Padyukov L, Worthington J, Siminovitch KA, Lathrop M, Taniguchi A, Takahashi A, Tokunaga K, Kubo M, Nakamura Y, Kamatani N, Mimori T, Plenge RM, Yamanaka H, Momohara S, Yamada R, Matsuda F, Yamamoto K.	Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population.	Nat Genet.	44	511-6	2012
	Okamoto A, Fujio K, Tsuno NH, Takahashi K, Yamamoto K.	Kidney-infiltrating CD4+ T-cell clones promote nephritis in lupus-prone mice.	Kidney Int.	82	969-79	2012
	Myouzen K, Kochi Y, Okada Y, Terao C, Suzuki A, Ikari K, Tsunoda T, Takahashi A, Kubo M, Taniguchi A, Matsuda F, Ohmura K, Momohara S, Mimori T, Yamanaka H, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K.	Functional variants in NFKB1E and RTKN2 involved in activation of the NF-κB pathway are associated with rheumatoid arthritis in Japanese.	PLoS Genet	8:e1002949		2012
	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
	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
	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

山本一彦

	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	年
山本一彦	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, <u>Yamamoto K.</u>	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
	.Okada Y, et al(+94人), <u>Yamamoto K</u> and Plenge RM.	Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.	Nature	506	376-381	2014
	Kochi Y, Suzuki A, <u>Yamamoto K</u>	Genetic basis of rheumatoid arthritis: a current review.	Biochem Biophys Res Commun	452	254-62	2014
	.Okamura T, Sumitomo S, Morita K, Iwasaki Y, Inoue M, Nakachi S, Komai T, Shoda H, Miyazaki J, Fujio K, <u>Yamamoto K.</u>	TGF-β3-expressing CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells control humoral immune responses.	Nat Commun		in press	2015
	<u>Yamamoto K.</u> , Okada Y, Suzuki A and Kochi Y.	Genetics of rheumatoid arthritis in Asia—present and future.	Nat.Rev.Rheumatol		in press	2015
	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	年
保田晋助	Kono M, <u>Yasuda S.</u> , Stevens RL, Koide H, Kurita T, Shimizu Y, Kanetsuka Y, Oku K, Bohgaki T, Amengual O, Horita T, Shimizu T, Majima T, Koike T, Atsumi T	RasGRP4 is aberrantly expressed in the fibroblast-like synoviocytes of patients with rheumatoid arthritis and controls their proliferation.	Arthritis Rheumatol		in press	2015
	Kurita T, <u>Yasuda S.</u> , Oba K, Odani T, Kono M, Otomo K, Fujieda Y, Oku K, Bohgaki T, Amengual O, Horita T, Atsumi T	The effect of tacrolimus in patients with interstitial lung diseases complicated with polymyositis or dermatomyositis	Rheumatology	54	39-44	2015
	Kurita T, <u>Yasuda S.</u> , Amengual O, Atsumi T	The efficacy of calcineurin inhibitors for the treatment of interstitial lung disease associated with polymyositis/dermatomyositis.	Lupus	24	3-9	2015
	Kataoka H, <u>Yasuda S.</u> , Fukaya S, Oku K, Horita T, Atsumi T, Koike T	Decreased expression of Runx1 and lowered production of Foxp3+ CD25+ CD4+ regulatory T cells in systemic sclerosis.	Mod Rheumatol	25	90-95	2015
	Kono M, <u>Yasuda S.</u> , Kato M, Kanetsuka Y, Kurita T, Fujieda Y, Otomo K, Horita T, Oba K, Kondo M, Mukai M, Yanai M, Fukasawa Y, Atsumi T	Long-term outcome in Japanese patients with lupus nephritis	Lupus	23	1124-1132	2014
	Jin H, Arase N, Hirayasu K, Suenaga T, Saito F, Tanimura K, Matsuoka S, Ebina K, Shi K, Toyama-Sorimachi N, <u>Yasuda S.</u> , 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	111	3787-3792	2014
	Odani T, <u>Yasuda S.</u> , Ota Y, Fujieda Y, Kon Y, Horita T, Kawaguchi Y, Atsumi T, Yamanaka H, Koike T	Up-regulated expression of HLA-DRB5 transcripts and high frequency of the HLA-DRB5*01:05 allele in scleroderma patients with interstitial lung disease.	Rheumatology	64	504-512	2012

	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	出版年
松本功	Tanaka Y, * <u>Matsumoto I</u> , Inoue A, Umeda N, Takai C, Sumida T.	Antigen-specific overexpression of human cartilage glycoprotein 39 on CD4+CD25+Foxp3+ Treg cells in the generation of glucose-6-phosphate isomerase induced arthritis.	Clin Exp Immunol	177	419-27	2014
	* <u>Matsumoto I</u> , Inoue A, Takai C, Umeda N, Tanaka Y, Kurashima Y, Sumida T.	Regulatory roles of tumor necrosis factor alpha-induced proteins (TNFAIP) 3 and 9 in arthritis.	Clin Immunol	153	73-78	2014
	Grunewald TG, Bach H, Cossarizza A, <u>Matsumoto I</u>	The STEAP Protein Family: Versatile Oxidoreductases and Targets for Cancer Immunotherapy with Overlapping and Distinct Cellular Functions.	Biol Cell	104	641-657	2012
	Inoue A, * <u>Matsumoto I</u> , Tanaka Y, Umeda N, Tanaka Y, Mihara M, Takahashi S, Sumida T.	Murine tumor necrosis factor α -induced adipose-related protein (tumor necrosis factor α -induced protein 9) deficiency leads to arthritis via interleukin-6 overproduction with enhanced NF- κ B, STAT-3 signaling, and dysregulated apoptosis of macrophages.	Arthritis Rheum	64	3877-3885	2012
	Kondo Y, Iizuka M, Wakamatsu E, Yao Z, Tahara M, Tsuboi H, Sugihara M, Hayashi T, Yoh K, Takahashi S, <u>Matsumoto I</u> , Sumida T	Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis.	Arthritis Rheum.	64	162-172	2012
	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	出版年
小竹茂	Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, <u>Kotake S</u> .	A novel peptide from TCTA protein inhibits proliferation of fibroblast-like synoviocyte (FLS) from rheumatoid arthritis patients.	Centr Eur J Immunol	39	468-470	2014
	<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.	J 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
	<u>Kotake S</u> , Yago T, Kawamoto M, Nanke Y.	Human receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) induces osteoclastogenesis of primates in vitro.	In Vitro Cell Dev Biol Anim.	48	593-8	2012
	Nanke N, Ishiguro N, Yago T, Kobashigawa T, Hashida T, <u>Kotake S</u>	The role of regulatory T cells in mice with experimental autoimmune uveitis – a preliminary study	Centr Eur J Immunol	37	102-5	2012
	Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, Yamanaka H, <u>Kotake S</u>	Tacrolimus potently inhibits human osteoclastogenesis induced by IL-17 from human monocytes alone and suppresses human Th17 differentiation	Cytokine	59	252-7	2012
	<u>Kotake S</u> , Nanke Y	Effect of TNF-alpha on osteoblastogenesis from mesenchymal stem cells	Biochim Biophys Acta	1840	1209-13	2014
	<u>Kotake S</u> , Yago T, Kawamoto M, Nanke Y	The role of T-cell leukemia translocation-associated gene protein in human tumorigenesis and osteoclastogenesis	J Biomed Biotechnol	2012	675317	2012
	<u>Kotake S</u> , Yago T, Kawamoto M, Nanke Y	Role of osteoclasts and interleukin-17 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: crucial 'human osteoclastology'	J Bone Miner Metab	30	125-35	2012
	Nanke Y, Kobashigawa T, Yago T, Kawamoto M, Yamanaka H, <u>Kotake S</u>	Tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase-3 production in rheumatoid arthritis synovial tissue is inhibited by blocking gap junction communication	Centr Eur J Immunol	37	237-242	2012
南家由紀 小竹茂	M-CSF, GM-CSF 特集 リウマチ膠原病における分子標的治療の最前線	最新医学	69	66-72	2014	

	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	年
桑名正隆	Hanaoka H, Okazaki Y, Satoh T, Kaneko Y, Yasuoka H, Seta N, and * <u>Kuwana M</u> .	Circulating anti-double-stranded DNA antibody-secreting cells in patients with systemic lupus erythematosus: a novel biomarker for disease activity.	Lupus	21	1284-1293	2012
	Nishimoto T, Satoh T, Simpson EK, Ni H, and * <u>Kuwana M</u> .	Predominant autoantibody response to GPIIb/IX in a regulatory T-cell-deficient mouse model for immune thrombocytopenia.	J. Thromb. Haemost	11	369-372	2013
	Nishimoto T, and * <u>Kuwana M</u> .	CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in pathophysiology of immune thrombocytopenia.	Semin. Hematol	50	S43-S49	2013
	<u>Kuwana M</u>	Dysregulated negative immune regulators in immune thrombocytopenia.	ISBT Sci. Ser	9	217-222	2014
	Nishimoto T, Numajiri M, Nakazaki H, Okazaki Y, and * <u>Kuwana M</u>	Induction of immune tolerance to platelet antigen by short-term thrombopoietin treatment in a mouse model of immune thrombocytopenia.	Int. J. Hematol	100	341-344	2014
	西本哲也、竹内勲、桑名正隆	発性血小板減少性紫斑病の発症とレギュラトリーT細胞。臨床免疫	アレルギー科	58	124-117	2012
	発表者氏名	論文タイトル	発表雑誌名	巻	頁	年
田村直人	Ogasawara M, <u>Tamura N</u> , Kageyama M, Onuma S, Kusaoi M, Toyama S, Sekiya F, Matsudaira R, Nawata M, Tada K, Matsushita M, Kempe K, Amano H, Morimoto S, Yamaji K, Takasaki Y.	Single-center, retrospective analysis of efficacy and safety of tacrolimus as a second-line DMARD in combination therapy and the risk factors contributing to adverse events in 115 patients with rheumatoid arthritis.	Clin Rheumatol	31	251-7	2012
	Ogasawara M, Murayama G, Yamada Y, Nemoto T, Kageyama M, Toyama S, Kusaoi M, Onuma S, Kon T, Sekiya F, Sugimoto K, Matsudaira R, Matsushita M, Tada K, Kempe K, Yamaji K, <u>Tamura N</u> , Takasaki Y.	Autofeedback from ultrasound images provides rapid improvement in palpation skills for identifying joint swelling in rheumatoid arthritis.	J Rheumatol	39	1207-14	2012
	Haruta K, Mori S, <u>Tamura N</u> , Sasaki A, Nagamine M, Yaguchi S, Kamachi F, Enami J, Kobayashi S, Yamori T, Takasaki Y.	Inhibitory effects of ZSTK474, a phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, on adjuvant-induced arthritis in rats.	Inflamm Res	61	551-62	2012
	Ogasawara M, Kageyama M, Kusaoi M, Onuma S, Kon T, Sekiya F, Sugimoto K, Matsudaira R, Matsushita M, Tada K, Kempe K, Yamaji K, <u>Tamura N</u> , Takasaki Y.	Recent trends in use of nonbiologic DMARDs and evaluation of their continuation rates in single and dual combination therapies in rheumatoid arthritis patients in Japan.	Mod Rheumatol	22	831-6	2012
	<u>田村直人</u>	リウマチ性疾患におけるPI3キナーゼに関する最近の知見。	日免会誌	35	8-13	2012
	<u>田村直人</u> , 多田久里守	脊椎関節炎の分子病態。リウマチ科 47: 130-135, 2012.	リウマチ科	47	130-5	2012
	<u>田村直人</u>	関節リウマチ (RA): 診断と治療の進歩。非生物学的製剤。日内科会誌	日内科会誌	101	Sep-73	2012