

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 26 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591260

研究課題名（和文） シェーグレン症候群発症の分子機構と制御

研究課題名（英文） Molecular mechanism and regulation in Sjögren's syndrome

研究代表者

住田 孝之（SUMIDA TAKAYUKI）

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：00183054

研究成果の概要（和文）：シェーグレン症候群(SS)発症の分子機構を明らかにし、分子をターゲットとした新規治療戦略を開発する事を目的とした。本研究では、唾液分泌に重要な機能を有するムスカリン作働性アセチルコリン受容体3（M3R）を分子標的として、以下の研究成果を明らかにした。1) SSの約50%においてM3Rに対する自己抗体とT細胞が存在した。2) M3RのB細胞エピトープは複数あった。3) 細胞外第二ドメインに対する抗M3R抗体は機能抑制する病因抗体であった。4) SS様の唾液腺炎(M3R immunized sialadenitis, MIS)を樹立した。5) MISの発症にはIFN- γ およびIL-17産生CD3+T細胞が必須である。6) MISの主要T細胞エピトープはM3R細胞外第一ドメインであり、単独免疫によりMISを誘導できた。

研究成果の概要（英文）：Sjögren's syndrome (SS) is one of autoimmune diseases. The purpose of this study is to clarify the molecular mechanism in the pathogenesis of SS and establish the new therapeutic strategy against target molecule. In this research, we focused on Muscarinic acetylcholine receptor 3 (M3R), because this receptor is a functional molecule to produce saliva from salivary glands. Our results are followings. 1) There were anti-M3R autoantibodies and M3R reactive T cells in about 50% of patients with SS. 2) The B cell epitopes were on N region, the first, the second, and the third extra-cellular domains of M3R molecules. 3) Antibodies against the second extracellular domain of M3R were the pathogenic autoantibody to suppress the saliva production. 4) We established M3R immunized sialadenitis (MIS) mouse model using M3RKO mouse and Rag-1KO mouse. 5) IFN- γ and/or IL-17 producing M3R reactive T cells were necessary to generate MIS. 6) The dominant T cell epitope of M3R was the first extracellular domain to induce MIS. Now we are selecting APL of T cell epitope and near future try to control MIS and SS via antigen-specific therapeutic strategy.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合 計
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総 計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：膠原病・リウマチ学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：膠原病学

1. 研究開始当初の背景

シェーグレン症候群(SS)は、口腔内乾燥感や乾燥性角結膜炎を主症状とする自己免疫疾患の一つであり、腺外所見として間質性腎炎などの全身の臓器病変も併発する。その病因として各臓器(唾液腺、涙腺、腎間質など)に浸潤したCD4陽性T細胞による自己免疫反応が注目されてきた。この自己反応性T細胞のT細胞レセプター(TCR)を解析すること、さらに、対応自己抗原を明らかにすることは、自己免疫疾患の発症機序を解明する上で重要であると思われる。申請者らは、数の少ない自己反応性T細胞を解析するために分子生物学的戦略を用いてSS患者の各臓器内浸潤T細胞のTCR遺伝子を解析し以下の事実を明らかにしてきた。

- 1) 口唇唾液腺、涙腺、腎間質に浸潤したT細胞は、抗原を認識して増加していた。
- 2) 口唇唾液腺浸潤T細胞が認識する対応抗原は、臓器非特異的自己抗原としてSS-A52kD、HSP10/60、唾液腺特異的自己抗原として α アミラーゼとムスカリン作働性アセチルコリン受容体(M3R)であった。

特にM3R分子は唾液腺上皮に特異的に発現しているばかりでなく、アセチルコリンの刺激により唾液を分泌する重要な受容体である。さらに、動物モデルにおいてM3Rに対する抗体が唾液腺分泌を障害することが報告されてきた。

2. 研究の目的

本研究では、SS患者においてM3Rに対する免疫応答を解析することにより、SSにおける唾液腺破壊の発症機序の解明と、SSに対する新しい抗原特異的治療戦略の開発を目的とした。

具体的には、次の三つを研究の主目的とした。

- (1) SS患者血清中抗M3R抗体やM3R反応性T細胞が存在するか否かについて解析した。さらに、抗M3R抗体のB細胞エピトープの解析、唾液腺分泌に対する機能解析を進めた。
- (2) M3Rに対する免疫応答がSS様の唾液腺炎を発症するか否かを検討する。樹立したマウスを用いて自己免疫性唾液腺炎発症の分子機構を明らかにする。
- (3) (2)で樹立したSSモデル動物を用いて、M3R反応性T細胞をアナジーに陥らせるアナログペプチド(APL)を選定し、抗原特異的な治療戦略を確立する。

本研究の独創的な点は、SSを自己免疫疾患としてとらえ、M3R分子をターゲットとした免疫応答による唾液腺炎発症の分子機構を解明する点である。さらに、M3RのAPLによる抗原特異的治療戦略を開発する点である。

3. 研究の方法

- (1) 抗M3R抗体のB細胞エピトープと機能解析

唾液分泌に重要なM3R分子に対する自己抗体について、B細胞エピトープ解析とそれぞれの抗体の機能との関連を明らかにするために以下の研究を行った。

①抗M3R抗体のB細胞エピトープ解析：

SS患者、健常人、それぞれ100名から採取した血清を用いる。M3RのN領域(67アミノ酸)、細胞外第一ドメイン(17アミノ酸)、第二ドメイン(25アミノ酸：KRTVPPGECFIQFLSEPTITFGTAI, AA212-236)、第三ドメイン(14アミノ酸)をコードする合成ペプチドを作成し、それぞれの抗原ペプチドに対するELISA法を確立し、抗M3R抗体のB細胞エピトープを検討した。

一方、抹消血におけるM3R反応性T細胞に関しては、細胞内IFN- γ 産生をフローサイトメトリーで測定した。

②抗M3R抗体の機能解析：

①で検出されたB細胞エピトープごとの抗M3R抗体が機能的自己抗体であるか否かを検定するために、次の方法により抗体の機能を解析した。アセチルコリンにより刺激された唾液腺上皮細胞株(HSG)がM3R受容体から細胞内にシグナルがはいることをCa influx法やフローサイトメトリー法で確認した。SS患者血清から精製した抗M3R抗体をこのアッセイシステムに加え、抗M3R抗体の受容体に対する機能を解析した。

③モノクローナルM3R抗体の作成と機能解析：

M3RのB細胞エピトープと機能との関連をより直接的に明らかにするために、M3Rの各B細胞エピトープに対するモノクローナル抗体を作成した。方法は、C57BL/6マウスに、1)で作成したヒトM3Rの各抗原を別々のマウスに免疫し、ハイブリドーマ法を用いてマウスモノクローナル抗体を作製した。選別はELISA法を用いた。機能解析は、2)で樹立した方法で、抗体のHSGにおけるCa influxへの影響により評価した。

(2) M3R免疫唾液腺炎(M3R immunized sialadenitis, MIS)モデルマウスの確立

①MISマウスの樹立：

M3Rに対する免疫応答がSS様の唾液腺炎を誘導するか否かを検討するために、M3RK0マウスにM3R分子のN領域、細胞外第一、第二、第三ドメインの主要領域をコードする合成ペプチドを免疫し、脾臓細胞をRag-1K0マウスに細胞移入し、唾液腺炎モデルマウス作製を試みた。

②MIS発症に係わる細胞解析：

M3R反応性T細胞がMIS発症に必須であるか否かを検討するために、M3RK0マウスの脾臓細胞をCD3+T細胞とCD3-細胞にMACSを用いて分画し、それぞれをRag-1K0マウスに細胞移入して唾液腺炎発症を解析した。

③MIS発症に係わるサイトカイン解析：

M3R反応性T細胞から産生されるどのサイトカインがMIS発症に重要であるか否かを検討

するために、1)M3R 反応性 T 細胞からのサイトカイン産生 (IFN- γ および IL-17 など) に関して ELISA 法で解析した。2)MIS マウスの唾液腺組織におけるサイトカイン産生を IF で検討した。3)M3RK0x IFN- γ KO マウスを作成し、MIS 発症に関して検討した。

(3)M3R免疫唾液腺炎モデルマウスを用いた抗原特異的治療法の確立

①M3RのT細胞エピトープ解析：

M3R領域を構成するN領域、細胞外第一ドメイン、第二ドメイン、第三ドメインをコードする合成ペプチドを作成し、in vitro においてそれぞれに対するT細胞応答をサイトカイン産生で検討した。

②M3RのT細胞エピトープ候補免疫によるMISの誘導：

①で選定したT細胞エピトープ候補をM3RK0マウスに免疫してMISの発症について解析した。

4. 研究成果

(1)抗M3R抗体のB細胞エピトープと機能解析

①抗M3R抗体のB細胞エピトープ解析：

M3R分子のN領域、細胞外第一、第二、第三ドメインに対する自己抗体がSSの約50%に検出された。M3R分子上の複数のB細胞エピトープが存在すること、一症例において1個～4個のB細胞エピトープを認識する抗M3R抗体が存在することが明らかになった。

一部のSS患者でM3R反応性T細胞を検討した結果、約50%において検出された。

②抗M3R抗体の機能解析：

細胞外第二ドメインに対する抗M3R抗体はCa influxを抑制した。一方、N領域や細胞外第一ドメインに対する抗体はCa influxを促進することが判明した。

③モノクローナルM3R抗体の作成と機能解析：

2種類のモノクローナル抗M3R第二細胞外ドメイン抗体を作成することができた。両者ともIgG2a, K鎖であったがCDR領域のアミノ酸配列が異なり、異なるB細胞エピトープを認識していると考えられた。HSG細胞株を用いた機能解析では、ともにCa influxを抑制する病因抗体と推定された。

(2)M3R 免疫唾液腺炎 (M3R immunized sialadenitis, MIS)モデルマウスの確立：

①MIS マウスの樹立：

M3R 分子の N 領域、細胞外第一、第二、第三ドメインの主要領域をコードする合成ペプチドを混合免疫した M3RK0 マウスの脾臓細胞を Rag-1KO マウスに細胞移入することにより、SS 類似の唾液腺炎誘導に成功した。

②MIS 発症に係わる細胞解析：

M3RK0 マウスの脾細胞由来 CD3+T 細胞の移入により単独で MIS を発症した。一方、CD3-細胞の移入によっては全く MIS を誘導できなかった。このことから、MIS 発症には M3R 反応性 T 細胞が必須であることが判明した。

③MIS発症に係わるサイトカイン解析：

M3R反応性T細胞からは有意なIFN- γ およびIL-17産生が認められた。MISマウスの唾液腺組織においてもIFN- γ およびIL-17発現が検出された。M3RK0x IFN- γ KOマウスにおいては、MISの程度が減少した。以上のことから、MIS発症にIFN- γ およびIL-17の両者が関与している可能性が示唆された。

M3RK0xIL-17KOマウスによる検討は現在解析中である。

(3)M3R免疫唾液腺炎モデルマウスを用いた抗原特異的治療法の確立

①M3RのT細胞エピトープ解析：

M3R細胞外第一ドメインが主要なT細胞エピトープであることが判明した。

②M3RのT細胞エピトープ免疫によるMISの誘導：

M3R細胞外第一ドメインをM3RK0マウスに免疫しRag-1KOマウスに移入することによりMISを発症することに成功した。この結果から、MIS発症に係わる細胞はM3R細胞外第一ドメインを認識するT細胞であることが明らかにされた。現在、8種類のM3R細胞外第一ドメインのAPL候補を作成し、in vitroで選定中である。

今後、M3R のアナログペプチドを用いた SS の抗原特異的治療に向けた基盤研究を進展させトランスレーショナルリサーチを推進する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 46 件)

全て査読有

1. Hasebe, N., Kawasaki, A., Ito, I., Kawamoto, M., Hasegawa, M., Fujimoto, M., Furukawa, H., Tohma, S., Sumida, T., Takehara, K., Sato, S., Kawaguchi, Y., and Tsuchiya, N. Association of UBE2L3 polymorphism with diffuse cutaneous systemic sclerosis in a Japanese population. Ann. Rheum. Dis. (in press) 2012
2. Kawasaki, A., Furukawa, H., Kondo, Y., Ito, S., Hayashi, T., Kusaoi, M., Matsumoto, I., Tohma, S., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N., Association of PHRF1 polymorphism with the clinical phenotypes of, but not with susceptibility to, systemic lupus erythematosus: An association study in a Japanese population. Lupus (in press). 2012
3. Tsuboi, H., Nakamura, Y., Iizuka, M., Matsuo, N., Matsumoto, I., and Sumida, T. Generation and functional analysis of monoclonal antibodies against the second extracellular loop of human M3 muscarinic acetylcholine receptor. Mod. Rheumatol. (in press) 2012
4. Umehara, H., Okazaki, K., Masaki, Y., Kawano, M., Yamamoto, M., Saeki, T.,

- Matsui, S., Yoshino, T., Nakamura, S., Kawa, S., Hamano, H., Kamisawa, T., Shimosegawa, T., Shimatsu, A., Nakamura, S., Ito, T., Notohara, K., Sumida, T., Tanaka, Y., Mimori, T., Chiba, T., Mishima, M., Hibi, T., Tsubouchi, H., Inui, K. Comprehensive diagnostic criteria (CDC criteria) for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. *Mod. Rheumatol.* 22(1):21-30,2012
5. Tanaka, Y., Matsumoto, I., Iwanami, K., Inoue, A., Minami, R., Umeda, N., Kanamori, A., Ochiai, N., Miyazawa, K., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Six-transmembrane epithelial antigen of prostate 4 (STEAP4) is expressed on monocytes/neutrophils, and is regulated by TNF antagonist in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* 30(1):99-102,2012.
 6. Umehara, H., Okazaki, K., Masaki, Y., Kawano, M., Yamamoto, M., Saeki, T., Matsui, S., Sumida, T., Mimori, T., Tanaka, Y., Tsubota, K., Yoshino, T., Kawa, S., Suzuki, R., Takegami, T., Tomosugi, N., Kurose, N., Ishigaki, H., Azumi, A., Kojima, M., Nakamura, S., Inoue, D., and The Research Program for Intractable Disease by Ministry of Health, Labor and Welfare Japan G4 team. A novel clinical entity, IgG4-related disease (IgG4RD) : general concept and details. *Mod. Rheumatol.* 22(1):1-14,2012
 7. Tanaka, Y., Matsumoto, I., Iwanami, K., Inoue, A., Umeda, N., Sugihara, M., Hayashi, T., Ito, S., and Sumida, T. Six-transmembrane epithelial antigen of prostate4 (STEAP4) is a tumor necrosis factor alpha-induced protein that regulates IL-6, IL-8, and cell proliferation in synovium from patients with rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* 22(1):128-136,2012.
 8. Kondo, Y., Matsumoto, I., Iizuka, M., Wakamatsu, E., Zhaojin, Y., Tsuboi, H., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Takahashi, S., and Sumida, T. Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum.* 64:162-172, 2012.
 9. 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, W. O., 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., and Yamamoto, K. A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. *PLoS Genet.* 2012 January; 8(1): e1002455. Published online 2012 January 26.
 10. Koga, M., Kawasaki, A., Ito, I., Furuya, T., Ohashi, J., Kyogoku, C., Matsushita, M., Oka, T., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Cumulative association of eight susceptibility genes with systemic lupus erythematosus in a Japanese female population. *J. Human Gen.* 56:503-507,2011
 11. Kawasaki, A., Furukawa, H., Kondo, Y., Ito, S., Hayashi, T., Kusaoi, M., Matsumoto, I., Tohma, S., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. TLR7 single-nucleotide polymorphisms in the 3' untranslated region and intron 2 independently contribute to systemic lupus erythematosus in Japanese women: a case-control association study. *Arthritis Reas. Ther.* 13(2):R41,2011.
 12. Yoshiga, Y., Goto, D., Segawa, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Ito, S., Taniguchi, M., and Sumida, T. Activation of natural killer T cells by α -carba-GalCer (RCAI-56), a novel synthetic glycolipid ligand, suppresses murine collagen-induced arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* 164(2):236-247,2011.
 13. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Horikoshi, M., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. Involvement of NK 1.1-positive $\gamma\delta$ T cells in interleukin-18 plus interleukin-2-induced interstitial lung disease. *Am. J. Res. Cell. Mol. Biol.* 45(3):659-666,2011.
 14. Akashi, N., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Inoue, A., Yamamoto, K., Umeda, N., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Sekiguchi, K., and Sumida, T. Comparative suppressive effects of tyrosine kinase inhibitors imatinib and nilotinib in models of autoimmune arthritis. *Mod. Rheumatol.* 21:267-275,2011.
 15. Hikami, K., Kawasaki, A., Koga, M., Ito, S., Hayashi, T., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Kusaoi, M., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Arinami, T., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SP11 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 63:755-763, 2011.
 16. Tsuboi, H., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Sugihara, M., Suzuki, T., Ogishima, H., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Matsumoto, I., and Sumida, T. Importance of serine727 phosphorylated STAT1 in IFN γ -induced signaling and apoptosis of human salivary gland cells.

- Int. J. Rheum. Dis.14:86-91, 2011.
- 17.Ito, I., Kawasaki, A., Ito, S., Kondo, S., Sugihara, M., Horikoshi, M., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Matsuta, K., Sumida, T., and Tsuchiya, N., Replication of association between FAM167A(C8orf13)-BLK region and rheumatoid arthritis in a Japanese polylation. Ann. Rheum. Dis. (letter) 69:936-937,2010.
 - 18.Umeda, N., Ito, S., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. A patient with rheumatoid arthritis who had normal delivery with etanercept. Intern. Med. 49:187-189,2010
 - 19.Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Sugihara, M., Hayashi, T., Chino, Y., Matsumoto, I., Ito, S., Ito, S., and Sumida, T. Inhibition of TGF- β signaling attenuates IL-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease. Clin. Exp. Immunol. 160: 394-402. Epub 2010 Jan 19.
 - 20.Tashiro, T., Nakagawa, R., Inoue, S., Omori-Miyake, M., Chiba, T., FUjii, S-I, Shimizu, K., Mori, K., Yoshiga, Y., Sumida, T., Watarai, H., and Taniguchi, M. Induction of Th1-biased cytokine production by α -carba-GalCer, a neoglycolipid ligand for natural killer T cells. Int. Immunol. 22:319-28. Epub 2010 Feb 24.
 - 21.Suzuki, T., Ito, S., Hand, S., Kose, K., Okamaoto, Y., Minami, M., Sugihara, M., Horikoshi, M., Tsuboi, H., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. New low-field extremity MRI, compactScan: comparison with whole body 1.5 tesla conventional MRI. Mod. Rheumatol.20:331-336,2010
 - 22.Kawasaki, A., Ito, I., Ito, S., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of TNFAIP3 with susceptibility to systemic lupus erythematosus in a Japanese population. J. Biomed. Biotechnol. 2010:207578. Epub 2010 May 27.
 - 23.Sumida, T., Tsuboi, H., Iizuka, M., Nakamura, Y., and Matsumoto, I. Functional role of M3 muscarinic acetylcholine receptor (M3R) reactive T cells and anti-M3R autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome. Autoimmunity Reviews 9:615-617,2010.
 - 24.Ogishima, H., Ito, S., Tsutsumi, A., Sugihara, M., Goto, D., Matsumoto, I., Obata-Yasuoka, M., Hamada, H., Yoshikawa, H.,Takahashi, H., Murashima, A., and Sumida, T. The effects of serum lactate dehydrogenase measurement and heparin dose adjustment on management of a pregnant patient with antiphospholipid syndrome. Int. J. Rheu. Dis. 2010 Aug; 13:e32-35.
 - 25.Tsuboi, H., Matumoto, I., Wakamatsu, E., Iizuka, M., Nakamura, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. New epitopes and function of anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with Sjogren's syndrome. Clin. Exp. Immunol. 162:53-61,2010.
 - 26.Hayashi, T., Ito, S., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. Elevated level of serum cystatin-C concentration is a useful predictor of myelosuppression induced by methotrexate for treatment of rheumatoid arthritis. Mod. Rheumatol. 2010 Jun 24.
 - 27.Chen, Q., Lamphier, M., Muramoto, K., Ding, Y., Ynag, H., Mackey, M., Li, W., Liu, D., Inoue, Y., Massaki, N., Patel, T., Groom, A., Reynolds, D., Perron, S., Shirota, H., Matsumoto, I., Sumida, T., Spyvee, M., Schiller, S., ZGusovsky, F., and Marc, K. Preostaglandin E2 stimulation of EP4 promotes Th1 differentiation and Th17 expansion and is critical for autoimmune disease. Br. J. Pharmacol. 160: 292-310, 2010.
 - 28.Horikoshi, M., Suzuki, T., Sugihara, M., Kondo, Y., Tsuboi, H., Uehara, T., Hama, M., Takase, K., Ohno, S., Ishigatsubo, Y., Yoshida, Y., Sagawa, A., Ikeda, K., Ohta, T., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. A comparison of low-field dedicated extremity magnetic resonance imaging and articular ultrasonography in patients with rheumatoid arthritis. Mod. Rheumatol. 2010 Jun 4.
 - 29.Doki, K., Homma, M., Hori, T., Tomita, T., Hasegawa, Y., Ito, S., Fukunaga, K., Kameko, M., Chiba, S., Sumida, T., Ohkohchi, N., and Kohda, Y. Difference in blood tacrolimus concentration between ACMIA and MEIA in samples with low haematocrit values. J. Pharm. Pharmacol. 62:1185-1188, 2010.
 - 30.Shen, N., Fu, Q., Deng, Y., Qian, X., Zhao, J., Kaufman, K.M., Tang, Y., Chen, J-Y, Yang, W., Wong, M., Kawasaki, A., Tsuchiya, N., Sumida, T., Kawaguchi, Y., Yum C-Y, Takasaki, Y., Hashimoto, H., Harley, J.B., Guthridge, J.M., Grossman, J.M., Cantor, R.M., Song, Y.W., Bae, S, Cehn, S, Hahn, B.H., Lau, Y.L., and Tsao, B.P. Gender specific association of X-linked TLR7 with male systemic lupus erythematosus. Proc. Natl. Acad. Sci. 10715838-43, 2010.
 - 31.Iizuka, M., Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Tsuboi, H., Nakamura, Y., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Pathogenic role of immune response to M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive in Sjogren's syndrome-like sialoadenitis. J.

Autoimmunity 35: 383-389, 2010.

32. Kawaguchi, Y., Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Nishimagi, E., Kamatani, N., Satoh, T., Kuwana, M., Sumida, T., and Hara, M. Muscarinic-3 acetylcholine receptor autoantibody in patients with systemic sclerosis: contribution to severe gastrointestinal tract dysmotility. *Ann. Rheum. Dis.* 68:710-714, 2009.
33. Ito, I., Kawasaki, A., Ito, S., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Tsutsumi, A., Hom, G., Graham, R.R., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Ohashi, J., Behrens, T.W., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Replication of the association between C8orf13-BLK region and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Arthritis Rheum.* 60: 553-558, 2009.
34. Tanaka, Y., Matsumoto, I., Iwamami, K., Inoue, A., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T. B cells have crucial role as autoantibody producers in arthritis mediated by glucose-6-phosphate isomerase. *Clin. Exp. Immunol.* 155:285-294, 2009.
35. Tsutsumi, A., Kobayashi, T., Ito, S., Goto, D., Matsumoto, I., Yoshie, H., and Sumida, T. Mannose binding lectin gene polymorphism and the severity of chronic periodontitis. *Jap. J. Clin. Immunol.* 32:48-52, 2009.
36. Kobayashi, T., Murasawa, A., Ito, S., Yamamoto, K., Komatsu, Y., Abe, A., Sumida, T., and Yoshie, H. Cytokine gene polymorphisms associated with rheumatoid arthritis and periodontitis in Japanese adults. *J. Periodontology* 80: 792-799, 2009.
37. Horikoshi, M., Ito, S., Ishikawa, M., Umeda, N., Kondo, Y., Tsuboi, H., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. Efficacy of mizoribine pulse therapy in rheumatoid arthritis patients with reduced or insufficient response to infliximab. *Mod. Rheumatol.* 19: 229-234, 2009.
38. Kondo, Y., Ito, S., Oi, Y., Satou, H., Tsuboi, H., Sugihara, M., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. A case of atypical Cogan's syndrome with arortitis. *Intern. Med.* 48:366-371, 2009.
39. Suzuki, T., Ito, S., Handa, S., Kose, K., Okamoto, Y., Minami, M., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., and Sumida, T. A new low-field extremity magnetic resonance imaging and proposed compact MRI score: evaluation of anti-tumor necrosis factor biologics on rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* 19:358-365, 2009.
40. Wakamatsu, E., Matsumoto, I., Yoshiga, Y., Iwanami, K., Tsuboi, H., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Altered peptide ligands regulate type II collagen-induced arthritis in mice. *Mod. Rheumatol.*

19:366-371, 2009.

41. Segawa, S., Goto, D., Yoshiga, Y., Hayashi, T., Matsumoto, I., Ito, S., and Sumida, T. The decrement of soluble CD1d proteins affects the function of NKT cells in patients with rheumatoid arthritis. *Int. J. Mol. Med.* 24:481-486, 2009.
42. Inoue, A., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Iwanami, K., Goto, D., Ito, S., and Sumida, T. Role of tumor necrosis factor- α -induced adipose-related protein in autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum. Ther.* 11:R118. Epub 2009 Aug 6.
43. Wang, Y., Ito, S., Chino, Y., Goto, D., Matsumoto, I., Murata, H., Tsutsumi, A., Uchida, K., Usui, J., Yamagata, K., and Sumida, T. Analysis of cytokine balance in lupus nephritis by laser-microdissection. *Clin. Exp. Immunol.* 159:1-10. Epub 2009 Oct 6.
44. Iwanami, K., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Inoue, A., Minami, R., Hayashi, T., Goto, D., Ito, S., Nishimura, Y., and Sumida, T. Altered peptide ligands inhibit glucose-6-phosphate isomerase (GPI) peptide-induced arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 11:R167. Epub 2009 Nov .
45. Kawasaki, A., Ito, I., Hikami, K., Ohashi, J., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., Ito, S., Tsutsumi, A., Koga, M., Arinami, T., Graham, R. R., Hom, G., Takasaki, Y., Hashimoto, H., Behrens, T.W., Sumida, T., and Tsuchiya, N. Association of STAT4 polymorphisms with systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Arthritis Res. Ther.* 10:R113, Epub 2008 Sep9.
46. Iwanami, K., Matsumoto, I., Tanaka, Y., Inoue, A., Goto, D., Ito, S., Tsutsumi, A., and Sumida, T. Arthrogeneic T cell epitope in glucose-6-phosphate isomerase (GPI)-induced arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 10:R130. Epub 2008. Nov.7.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

住田 孝之 (SUMIDA TAKAYUKI)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号 : 00183054

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :