戦略的創造研究推進事業　CREST
研究領域「アレルギー疾患・
自己免疫疾患などの発症機構と治療技術」

研究課題「接着制御シグナルの破綻と自己免疫疾患」

研究終了報告書

研究期間　平成　21年　10月～平成　27年　3月

研究代表者：木梨達雄
（関西医科大学附属生命医学研究所　教授）

§1 研究実施の概要

(1)実施概要

本研究課題の目的は、接着制御分子 RAPL と Mst1 の欠損マウスおこる自己免疫様病態の原因を明らかにし、RAPL と Mst1 によるシグナル経路の分子的基盤を明らかにするとともに、接着制御による自己免疫制御の概念を明確にすること、また、Mst1 欠損マウスにおける自己免疫発症は原因不明であるヒト自己免疫疾患である IgG4 関連疾患と類似していることから、IgG4 関連疾患における接着制御分子の関与を調べることである。

１．RAPL は細胞周期制御因子 $p27^{Kip1}$ の核内移行を促進することによって G1-S 期移行を負に調節していること、その結果、RAPL 欠損リンパ球では G1-S 期移行が促進し、リンパ球増殖が亢進すること、およびこの破綻が自己免疫性ループス腎炎、B リンホーマ発症につながることを明らかにした。このように RAPL は二次免疫組織におけるホメオスターシスの維持に重要なリンパ球動態を促進するとともに、抗原刺激による過剰な増殖反応を抑制し、自己免疫疾患発症を阻止する分子であることがわかった。この研究では木梨チームは主に個体レベルの解析を、片桐チームは分子解析を行った。

2. Mst1 欠損では多臓器にわたる自己免疫様病態が生じるが、その原因として中心性および末梢性寛容の破綻が関与していることを明らかにした。Mst1 欠損では、胸腺の選択異常および制御性 T 細胞の発生や機能低下が起こっていることが明らかになった。この解析では胸腺組織内動態と抗原認識過程の２光子ライブイメージングに成功し、Mst1 による LFA-1 を介する接着調節が胸腺細胞の髄質内移動および Aire 陽性胸腺上皮細胞が発現する自己抗原の認識に必要であることを示した。また、制御性 T 細胞の抗原特異的接着動態の破綻を可視化し解析することができ、Mst1 欠損による免疫シナプス形成異常を突き止めた。この解析は木梨グループが主に行った。

3. Rap1 は下流標的分子 RAPL-Mst1 を介して、細胞極性を誘導するとともに、前方に LFA-1 クラスターを誘導することで LFA-1 を介する接着・遊走を促進する。細胞内輸送を調節する Rab family 低分子量 G タンパク質を解析し、LFA-1 の極性輸送に関与する分子として Rab13 を同定した。Mst1 による Rab13 交換因子である DENND1C のリン酸化による Rab13 活性化が LFA-1 クラスター形成と接着性を上昇させること、Rab13 欠損リンパ球はリンパ節ホーミングが低下し、リンパ組織が低形成となることを明らかにした。この解析は片桐グループが主に行った。

４．RAPL 遺伝子、MST1 遺伝子プロモーター領域に多数存在する CpG クラスターのメチル化解析を、IgG4 関連疾患と診断された自己免疫性膵炎患者 30 名ついて行った結果、膵外病変（涙腺、唾液腺等）をもつ患者群で MST1 のメチル化が有意に亢進していた。慢性関節リウマチ患者では IgG4 関連疾患と異なる部位のメチル化が亢進していたが、全体的なメチル化頻度に有意な差はなかった。一方、RAPL 遺伝子はいずれの疾患においてもメチル化は起こっておらず、エピジェネティックな機序による MST1 発現の抑制が自己免疫病に寄与していることが示唆された。この研究は岡崎・木梨サブグループを中心に行われた。

以上のチーム全体の解析結果から接着制御分子もつ細胞周期調節や自己寛容の成立と維持に関連する RAPL－Mst1 を介する LFA-1 接着制御の重要性を明らかにすることができた。シグナル伝達は Rab13 を介する細胞内輸送に関与する分子的機序を見出し、個体レベルでの重要性を明らかにできた。また、ヒト IgG4 関連疾患における MST1 遺伝子のメチル化亢進はヒト自己免疫疾患における関与を示唆するとともに、この疾患の病態解明につながると期待される。

(2)顕著な成果
(CREST 研究で得られた最も顕著な成果を＜優れた基礎研究としての成果＞と＜科学技術イノベーションに大きく寄与する成果＞各々3 点まで挙げ、それぞれについて 200 字程度で説明してください。研究成果の科学技術上のインパクトや国内外の類似研究の研究動向・状況に対する位置づけについても説明してください。成果は論文、特許、試作品、展示などが挙げられます。)

＜優れた基礎研究としての成果＞
(先導的・独創的であり国際的に高く評価され、今後の科学技術に大きなインパクトを与える成果など)

1.
接着と増殖の関連については従来から指摘されているが、具体的機序については不明な点が多い。接着制御分子であるRAPLの新たな機能として抗原受容体による増殖刺激時、G1サイクリン阻害分子p27Kip1の核内移行を促進することによってG1-S期進行を負に制御していることを見出した。RAPL欠損によってp27が細胞質に偏在するのでcdk2を抑制できず、増殖が亢進し、ループス様腎炎、B 細胞リンホーマが発生するに至ることが判明した。今後、免疫系のホメオスターシスに接着制御の観点から具体的解析が期待される。

2.
胸腺細胞の組織内動態と選択過程との関連について初めてMst1によるLFA-1/ICAM-1接着制御の必要性を明らかにした。胸腺細胞が正の選択を経たのち胸腺髄質内をLFA-1/ICAM-1を介して高速に移動する過程にMst1が必要であること、また、負の選択環境下ではAire陽性胸腺上皮細胞が抗原提示細胞として働き、胸腺細胞が強く接着する過程でMst1によるLFA-1の接着制御が必要であることが見出された。謎が多い自己寛容の成立機序について接着制御の観点から新たな展開が期待できる。

3.
制御性T細胞の抗原特異的抑制にMst1によるLFA-1/ICAM-1を介した動的免疫シナプス形成が必要であることを初めて明らかにした。Mst1欠損TregはT細胞移入による大腸炎の抑制が著しく障害され、抗原特異的T細胞増殖の抑制にも障害が見られた。リンパ節組織内では制御性T細胞は樹状細胞と一過性の動的接着を繰り返しており、動的シナプスを形成していること、この過程にMst1によるLFA-1接着制御が必要であることが判明した。制御性T細胞の特徴的な接着動態から抑制機構の解明に新たな展開が期待できる。

＜科学技術イノベーション・臨床応用に大きく寄与する成果＞
(新産業の創出への手掛かりなど出口を見据えた基礎研究から、企業化開発の手前までを含め、科学技術イノベーションに大きく貢献する成果など)

1.
Mst1 プロモーター領域に CpG クラスターが存在し、エピジェネティックな制御によるMst1の発現低下から自己寛容の破綻が想定されるが、IgG4関連疾患自己免疫性膵炎患者では唾液腺、涙腺など膵外病変をもつ患者ではそうでない場合に比較しメチル化頻度がCpG クラスター全体にわたり亢進していることが判明した。慢性関節リウマチでは特定のメチル化部位に亢進が見られたが、メチル化頻度に有意差はなかった。RAPL遺伝子は一部の腫瘍でメチル化が報告されているが、IgG４関連疾患やリウマチ患者ではメチル化

の亢進は認められなかった。Mst1 のメチル化が自己免疫性膵炎の全身性の病態に寄与していることが予想され、病態の把握と解明につながると考えられる。

２．組織切片を用いた２光子イメージング技術の応用。
２光子顕微鏡を用いた生体イメージングは少数の亜集団解析や胸腺など固定が難しい臓器には困難であった。組織のスライス培養を用いてリンパ・胸腺組織片を作成し、酸素を飽和したメディウムの還流下に、ライブイメージングする手法を確立した。この手法を用いて制御性 T 細胞や負の選択過程のイメージングが可能になった。この手法は限られた細胞および組織のイメージングに適しており、患者組織やリンパ球を用いたヒトへの展開も見込まれる。

３．LFA-1/ICAM-1 の一分子解析技術の開発。
LFA-1 は刺激に応答して ICAM-1 などのリガンドに対する速親和性や局在を変化させる特徴をもつが、実際の細胞接着の過程で LFA-1/ICAM-1 結合の変化を定量的に測定することはできていなかった。平面脂質２重膜に光退色抵抗性の蛍光色素でラベルした ICAM-1 を組み込み、全反射顕微鏡を用いた一分子イメージングにより免疫シナプス形成における LFA-1/ICAM-１の結合時間を測定することに成功した。この手法はリンパ球の移動と停止機序から癌の転移など細胞移動全般の解析の応用に有用であると考えられる。

§2 研究実施体制

(1)研究チームの体制について

①「木梨」サブグループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
木梨　達雄	関西医科大学附属生命医学研究所	教授	H21.10～H27.3
片貝　智哉	同上	講師	H21.10～H27.3
植田　祥啓	同上	講師	H21.10～H27.3
羽廣　克嘉	同上	助教	H21.10～H24.6
近藤　直幸	同上	助教	H24.9～H27.3
安田　鐘樹	同上	研究員	H21.10～H27.3
小澤　まどか	同上	研究員	H26.4～H27.3
濱口　理恵	同上	研究支援者	H21.10～H27.3
高野　令名	同上	研究支援者	H22.4～H26.3

研究項目

・　接着制御分子欠損による自己免疫発症の免疫学的機序の解析

・　接着動態制御による自己寛容の成立と維持の解析

②「岡崎」サブグループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
岡崎　和一	関西医科大学医学部	教授	H21.10～H27.3
内田一茂	同上	講師	H24.10～H27.3
楠田武生	同上	助教	H21.10～H27.3
富山尚	同上		H21.10～H27.3
福原貫太郎	同上		H25.4～H27.3

研究項目

・自己免疫性膵炎を含む IgG4 関連全身疾患における接着制御分子 Mst1, RAPL 遺伝子のメチル化解析

・IgG4 関連疾患における制御性 T 細胞の解析

②「片桐」サブグループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
片桐晃子	北里大学理工学部	教授	H21.10～H27.3
石原沙耶花	同上	助手	H23.4～H27.3
菅澤はるか	同上	技術員	H24.4～H27.3
錦見昭彦	同上	准教授	H25.4～H27.3
石塚大地	同上	M2	H25.4～H27.3
大内祐太郎	同上	M2	H25.4～H27.3
舘野正俊	同上	M1	H26. 4～H27.3
西川京助	同上	M1	H26. 4～H27.3
丹野沙紀	同上	M1	H26. 4～H27.3
勝又美菜子	同上	M1	H26. 4～H27.3

橋元詩乃	同上	M1	H26．4～H27.3
池田航太	同上	M1	H26．4～H27.3

研究項目
・　接着制御分子シグナルの標的分子解析による接着動態と増殖制御

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について
(研究チーム外での連携や協働についてご記入ください。ライフ分野では臨床医等を含みます。)

2光子顕微鏡による組織イメージングおよび一分子イメージングは新学術領域「動く細胞と場のクロストークによる秩序の形成」(領域代表　宮田卓樹)において計画研究班員として技術指導および共同研究を通じて連携。

厚生労働科学研究補助金 (難治性疾患等克服事業)「IgG4関連疾患に関する調査研究」(代表　千葉勉)において分担研究者としてIgG4関連疾患の解析を通じて連携。

九州大学生体防御研究所(福井宣規教授)、徳島大学酵素センター(松本満教授)と共同研究を通じて連携。

§3 研究実施内容及び成果

(1)研究実施内容及び成果

≪実施方法・実施内容・成果に加え、成果の位置づけや類似研究との比較をまとめてください。≫

3．1 接着制御分子欠損マウスに起こる免疫異常の解析

研究目的:RAPL 欠損あるいは Mst1 欠損マウスに発生する自己免疫病態を解析し、臓器特異性や関与する免疫細胞の同定、RAPL 欠損と Mst1 欠損との相違点を明らかにする(木梨サブグループ、片桐グループ)。

方法:RAPL 遺伝子欠損(*rapl*−/−)(C57/BL6 に8代 backcross)、Mst1 遺伝子欠損(mst1f/f, CAG−Cre)マウス(C57BL/6 background)によって発生する高 Ig 値、自己抗体産生、サイトカイン産生の亢進、肺、肝臓、膵臓、腎、唾液腺などの組織におこる免疫細胞浸潤の組織学的検討を継時的に行い、臓器特異性や関与する免疫細胞を特定、RAPL 欠損と Mst1 欠損との相違点を明らかにする。Mst1f/f マウスと細胞系列特異的 Cre 発現マウス(Lck−Cre, mb1−Cre, CD11c−Cre 等)と交配して、T 細胞、B 細胞特異的 Mst1 欠損マウスを作成し、免疫異常の有無を調べ、病態への関与を明らかにする。これらの解析から病態発症に関与する細胞を特定する。Mst1 の homolog である Mst2 は全身性に発現しており、機能的に redundancy が予想されることから、Mst2 欠損マウス、Mst1/Mst2 double knockout マウスを作成し、RAPL/Mst1 シグナル伝達に関与する遺伝子が同定された場合、適宜、遺伝子改変マウスを作成し、自己寛容の分子的機序について解析を行う。Mst1 欠損 T 細胞の抗原応答を調べ、ライブイメージング手法を用いて抗原提示細胞との相互作用を解析する。

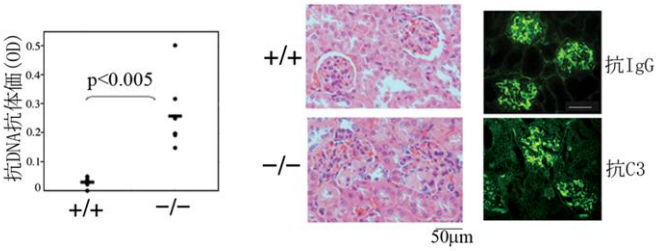


図1 RAPL欠損マウスは加齢するとループス腎炎を発症
(左)10ヵ月令RAPL欠損マウス(-/-)は正常マウス(+/+)に比べ、抗dsDNA抗体価が上昇(右)腎臓切片のHE染色像、抗IgG、C3抗体による蛍光染色像。RAPL欠損マウスの糸球体は肥大し、免疫複合体が沈着

結果:RAPL 欠損マウスは若齢(2ヵ月)ではホーミング異常によるリンパ組織低形成であるが、加齢とともに(10 ヶ月齢、雌)では脾臓、末梢リンパ節腫大がおこり、T 細胞、B 細胞の増加がみられ、血清 IgG 高値、自己抗体(抗核抗体、抗 dsDNA 抗体)が陽性になる。制御性 T 細胞数に変化はなかった。組織学的に IgG、補体 C3 成分が沈着するループス型糸球体腎炎を発症する(**図1**)。

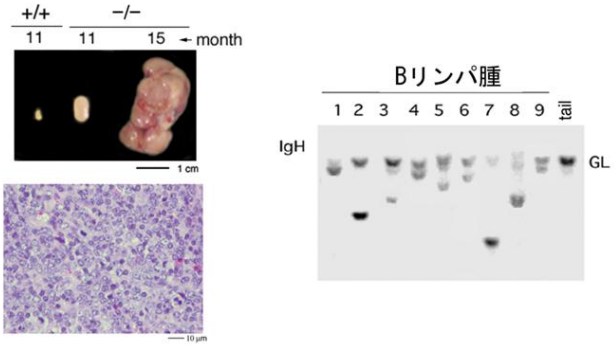


図2 RAPL欠損マウスはBリンパ腫を発症
(左)11ヵ月と15ヵ月令のRAPL欠損(-/-)マウスの腫脹したリンパ節(上)とBリンパ腫。(右)RAPL欠損マウス由来Bリンパ腫の免疫グロブリンの再編成を示すサザンブロット。

RAPL 欠損雄マウスでも同様の傾向であったが、発症は 15−18 ヶ月と遅い。12 ヶ月齢以降の RAPL 欠損マウスの約 30%が B 細胞性リンホーマ($IgM^+IgD^+C21^+CD23^+$)が脾臓、末梢リンパ節、粘膜リンパ節にみられた(**図2**)。

リンホーマの発症と自己免疫様病態の程度に相関はなかった。頻度は低いが、リンホーマ以外に肝細胞癌、肺癌がみられた。若齢 RAPL 欠損マウスのナイーブリンパ球の増殖応答を調べた結果、T 細胞、B 細胞ともの抗原受容体架橋刺激による in vitro の増殖が亢進し、CD3ε−/−マウスの移入実験によっても増殖亢進が認められたことから、増殖亢進の原因と自己免疫、リンホーマ発症との関係について解析を進めた。その結果、RAPL がリンパ球に

おいて p27Kip1 の細胞内局在を調節することによって細胞周期を負に制御していることが明らかになった(項目2参照)。

Mst1 欠損マウス(Mst1f/f;CAG-cre)は若齢ではRAPL欠損同様にリンパ組織が低形成であるが、加齢とともに effector/memory 細胞が増加、サイトカイン産生の亢進が見られ(**図3**)、多臓器(肺、肝臓、膵臓、唾液腺、腎臓、消化管)にリンパ球浸潤がみられ、各組織に対する自己抗体が血清中に検出された(**図4**)。

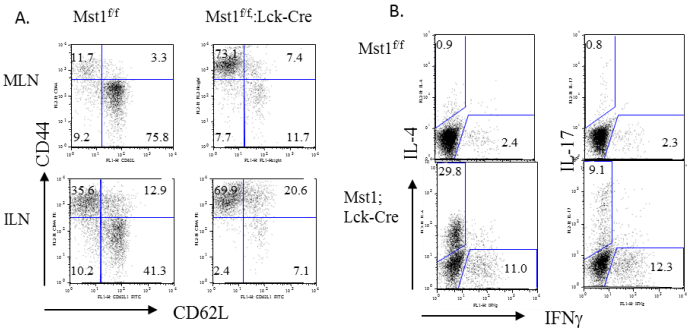


図3 リンパ節内活性化T細胞の増加
Mst1欠損マウス(4カ月齢)腸間膜リンパ節 (MLN)、鼠径リンパ節 (ILN)において、活性化T細胞が増加していた(CD44 high/CD62L low)(A)、またIL-4, IL-17, IFNgの産生が亢進していた(B)。

RAPL 欠損と異なり、リンパ組織の腫大、リンホーマなどの腫瘍の発生は見られない。浸潤細胞は T 細胞、B 細胞(形質細胞を含む)、ミエロイド細胞が主体である。T 細胞特異的 Mst1 欠損マウス(Mst1f/f ; Lck-cre)では全身性の欠損と同程度あるいはそれ以上の自己免疫様病態を示した(**図5**)。一方、B 細胞特異的 Mst1 欠損マウス(Mst1f/f ; mb1-cre)では正常であったことから、T 細胞に起因していると考えられる。胸腺細胞の分化について大きな異常はなかったが、CD4+または CD8+ single positive (SP)細胞がやや減少傾向ににあった。胸腺内制御性 T 細胞(Treg)を調べた結果、Foxp3 陽性 Treg が減少していた。TCR トランスジェニックマウス等を用いた解析の結果、Mst1 欠損マウスでは胸腺細胞の正と負の選択の異常が見出された(項目3参照)。末梢リンパ節では Treg の細胞数は回復していたが、抑制機能の障害が見出された(項目3)。これらの結果から活性化T細胞の異常な増殖の原因として、中心性および末梢性の自己寛容の成立・維持の破綻が考えられる。自己反応性活性化 T 細胞の増殖の一因として homeostatic proliferation の効果を調べた結果、Mst1 欠損マウス(Mst1f/f : CAG-Cre, Mst1f/f : Lck-Cre)では、移入したT細胞の増殖が亢進しており、一方、アポトーシスについて検討したが、やや促進傾向にあったが、障害は認められなかった。これらのことから、リンパ球の減少したリンパ組織環境が活性化した自己反応性T細胞の増殖を促進していることが示唆された。Mst1 のホモログである Mst2 は全身性に発現しており、機能的に redundancy が予想されることから Mst2 ノックアウトマウスの解析を行った。Mst2 欠損マウスは免疫学的に正常であったが、Mst1/Mst2 double knockout マウスは若齢では Mst1 欠損マウスで見られた末梢リンパ組織の低形成がより著明にみられ、活性化した effector/memory T 細胞も早期より増加していた。

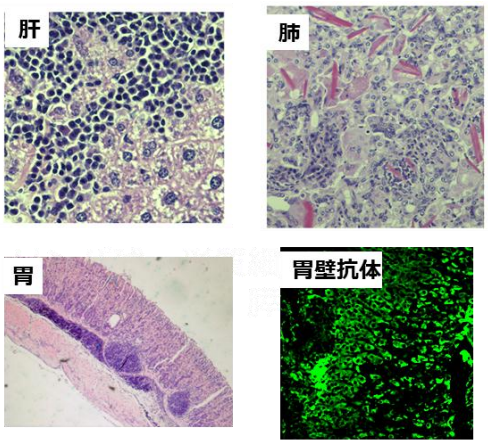


図4. **Mst1欠損マウス(Mst1f/f;CAG-cre)は effector/memory細胞が増加し、多臓器(肺、肝臓、膵臓、唾液腺、腎臓、消化管)にリンパ球浸潤がみられ、各組織に対する自己抗体が血清中に検出された。**

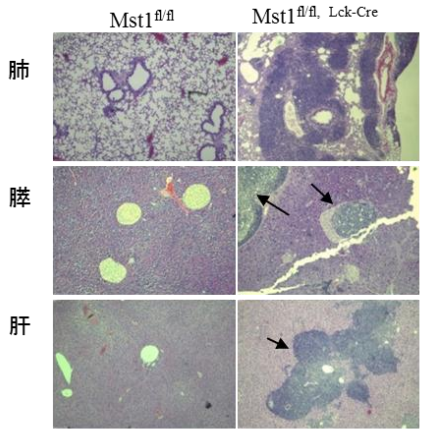


図5 **T細胞特異的Mst1欠損マウスでは全身性の欠損と同程度あるいはそれ以上の自己免疫様病態を示した。一方、B細胞特異的Mst1欠損マウス(Mst1f/fでは正常であった。**

成果の位置づけ:RAPL 欠損と Mst1 欠損ではと

もに自己免疫様病態を発症するが、臓器特異性やリンパ増殖性病態が異なり、RAPL 欠損では主に B 細胞が、Mst1 欠損では T 細胞に起因して発症することが初めて明らかになった。研究結果から RAPL がインテグリン接着と細胞増殖の両面を調節していることから、リンパ球の増殖と接着の新たな関係が見出された。Mst1 は従来、過剰発現系を用いてか解析からアポトーシスを促進することが報告されてきた。またショウジョウバエ Hippo（Mst1/2 ホモログ）経路は接着による増殖抑制および臓器サイズの調節が明らかになっている。本研究によって Mst1、Mst2 遺伝子欠損マウスの個体レベルの解析からは増殖亢進は認めらなかったことから、免疫系における Mst1、Mst2 の機能は接着や細胞形態の制御の方向に進化的に進んだと推測される。

Mst1 下流分子解析から Rab13 が同定され、遺伝改変マウスの解析からリンパ球動態を制御していることが明らかになった（項目2参照）。

３．２ 接着制御分子シグナルとリンパ球増殖、分化、アポトーシス

目的：RAPL 欠損，Mst1 欠損による増殖、分化、アポトーシスへの影響を明らかにし、自己免疫病態との関連を探る。（片桐グループ、木梨サブグループ）

方法： 細胞周期に関して G1 サイクリン阻害分子 p27kip1 の異常が RAPL 欠損リンパ球において見出されていることから、p27 のリン酸化、分解、局在について詳細に調べる。p27 遺伝子改変マウス(p27-/-、及び細胞質移行が阻害されている p27S10A の knock-in)と RAPL-/-マウスの交配し、RAPL 欠損マウスで発症する糸球体腎炎、B 細胞リンホーマの発症に p27 が関与しているか調べる。また、p27Kip1 遺伝子改変マウスを用いて p27Kip1 がリンパ球の動態制御に関与するか、明らかにする。

抗原認識過程を可視化し、接着制御分子欠損した T リンパ球、あるいは抗原提示細胞による T 細胞の活性化への影響を調べる。OT-II/Mst1-/-由来 T リンパ球と OVA ペプチド提示樹状細胞を用いて、リンパ節組織内における抗原特異的相互作用を2光子レーザー顕微鏡を用いて観察し、接着動態を定量化する。リンパ節内での観察を、in vitro 系と比較検討しながら、抗原特異的接着動態と活性化における Mst1 の機能を明らかにする。

RAPL-Mst1 下流シグナル分子について会合分子、リン酸化解析等を行い、ターゲット分子の探索する。ケモカイン刺激による Rap1-RAPL-Mst1 シグナル伝達は先端膜形成と LFA-1 のクラスター形成を誘導し、リンパ球移動を促進するが、そのメカニズムについて、小胞輸送系にかかわる Rab 蛋白質ファミリーとの関連を会合や局在を調べ、候補分子を解析する。候補遺伝子について細胞極性、LFA-1 依存性接着の血管内皮接着、免疫シナプスの解析を進め、その機能を調べる。関与が認められた分子について、さらにシグナル伝達機構について調べるとともに、遺伝子改変マウスを作成し、in vivo における機能を解析して、免疫系ホメオスターシス、自己寛容における役割を明らかにする。

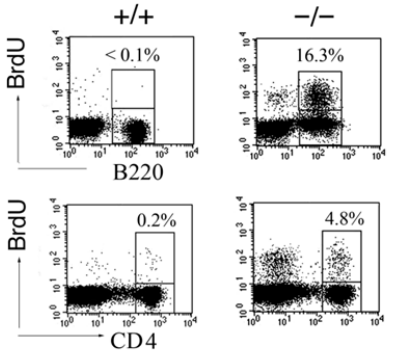


図6 RAPL欠損リンパ球の増殖亢進。（上）：B220陽性B細胞のBrdU取り込み。RAPL欠損B細胞（-/-）は、正常B細胞（+/+）に比べ、BrdU取り込みが亢進。（下）CD4陽性T細胞のBrdU取り込み。RAPL欠損T細胞は、正常T細胞に比べてBrdU取り込みが亢進。

結果：

1）RAPL による細胞周期制御： RAPL 欠損 T 細胞、B 細胞を抗原受容体架橋刺激による in vitro での増殖が 2－3 倍亢進し、in vivo においても亢進していた（**図6**）。早期シグナル伝達（チロシンリン酸化、PI3 キナーゼ、MAP キナーゼ、カルシウム応答）、アポトーシスについて解析したがほぼ正常であった。細胞周期解析から S 期への移行が亢進していることが明らかになったが、G1 サイクリン、Cdk4 発現とキナーゼ活性、RB 蛋白質の発現およびリン酸化には異常はなかった。しかし、Cdk2 キナーゼ活性が野生型に比較し 2－3 倍亢進し

ていた(**図7**)。正常では刺激後、サイクインＥの阻害分子である p27Kip1 がユビキチン化されプロテアソームにより分解をうけるが、RAPL 欠損リンパ球では p27Kip1 の分解が阻害され、細胞質に蓄積していることが判明した(**図7, 図8**)。ユビキチン化を誘導する T187 リン酸化、およびユビキチンリガーゼの発現キネティクスには異常はなかった。しかし、正常では G1 初期に細胞質移行シグナルである S10 のリン酸化が抑制され、核内で分解されるが、RAPL 欠損リンパ球では S10 のリン酸化が持続し、細胞質から核への移行が阻害されていた。RAPL を強制発現すると S10リン酸化キナーゼであるKis のキナーゼ活性を抑制し、その結果、p27Kip1 の S10 リン酸化が抑制され核内への集積、S 期への移行抑制が誘導された。これらの結果から、RAPL は p27Kip1 の核移行を調節することによって G1-S 移行のチェックポイント機構として機能していることが明らかになった(**図9**)。この破綻が RAPL 欠損マウスの自己免疫様病態、リンホーマの発症の原因になっているかどうか調べるために、p27Kip1 の S10 をアラニンに変異した p27Kip1S10A ノックインマウスと交配した調べた結果、細胞増殖、ループス型腎炎(**図10**)、自己抗体、リンホーマの発症が抑制されたことから、p27Kip1 のリン酸化調節の破綻がリンパ増殖性の免疫異常につながったと考えられる。

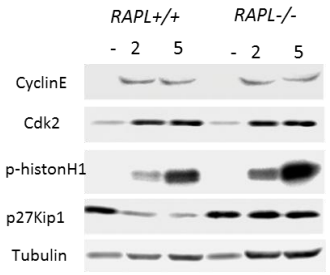


図7 RAPL欠損B細胞におけるCdk2ナーゼ活性化亢進とp27Kip1分解異常。B細胞を抗IgM抗体架橋(2ug/ml, 5ug/ml)刺激後、48時間で解析。RAPL欠損ではサイクリンE, Cdk2の発現誘導は正常であるが、Cdk2のキナーゼ活性(histonH1リン酸化)の亢進、およびp27Kip1の分解障害が認められた

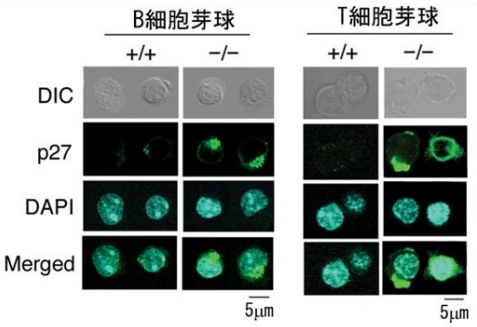


図8 抗原刺激したRAPL欠損リンパ芽球では、p27kip1が細胞質に蓄積
左パネル：正常B細胞芽球ではp27kip1は分解され、RAPL欠損B細胞芽球(－／－)ではp27kip1が細胞質に蓄積していた。
右側パネル：正常T細胞芽球(＋／＋)ではp27kip1は分解されてなくなっていますが、RAPL欠損T細胞芽球(－／－)ではp27kip1が細胞質に蓄積

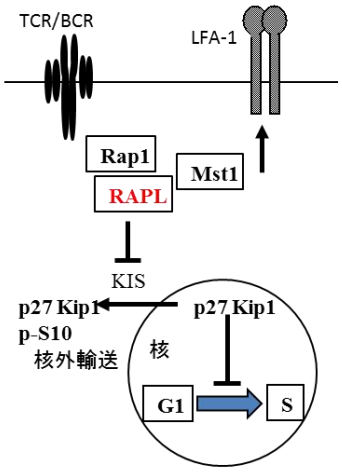


図9 RAPLによる細胞周期制御
RAPLはp27Kip1の核外輸送を抑制し、G1-S期移行を負に制御する

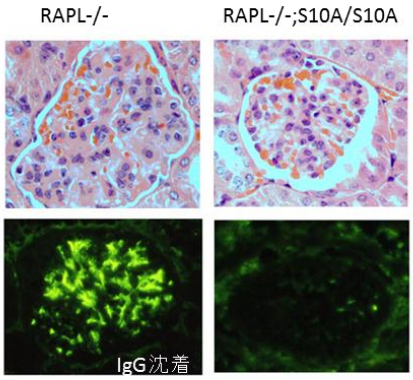


図10 Kip1/S10A変異による糸球体腎炎の抑制

2)Mst1 による抗原認識過程の制御 (木梨サブグループ)：

Mst1 欠損 T 細胞は抗原依存的増殖が障害されており、細胞周期に入る割合および細胞数の低下が認められた(**図11**)。抗原受容体架橋による増殖には異常が見られなかったことから、抗原提示細胞との相互作用の過程を解析した。抗原認識過程を可視化する系としてリンパ節ストローマ細胞・樹状細胞共培養系を樹立し調べた結果、Mst1 欠損によって APC との安定した接着を形成

する過程に障害があり、Ca2+ influx の遅延が観察され、さらに共培養開始後 3 時間でみられる活性化マーカーCD69 の亢進が抑制、S 期への進行遅延がみられた(**図12**)。膝窩リンパ節の intravital imaging によって観察した結果、in vitro 系と同様に APC との接着が不安定であり、Ca2+ influx 遅延が観察された。また、OT-II を移入した後、OVA ペプチドを投与すると、LFA-1/ICAM-1 依存的 DC との接着によって抗原特異的停止が数分以内に起こるが、Mst1 欠損では抗原特異的停止が阻害されていた。平面脂質2重膜上に OVA peptide-MHC, CD80, ICAM-1 を再構成し、免疫シナプスの形成を調べた結果、Mst1 欠損によって LFA-1/ICAM-1 が peptide/MHC を囲む特徴的な SMAC(supramoleclar activation complex)構造が形成されないことが判明した。

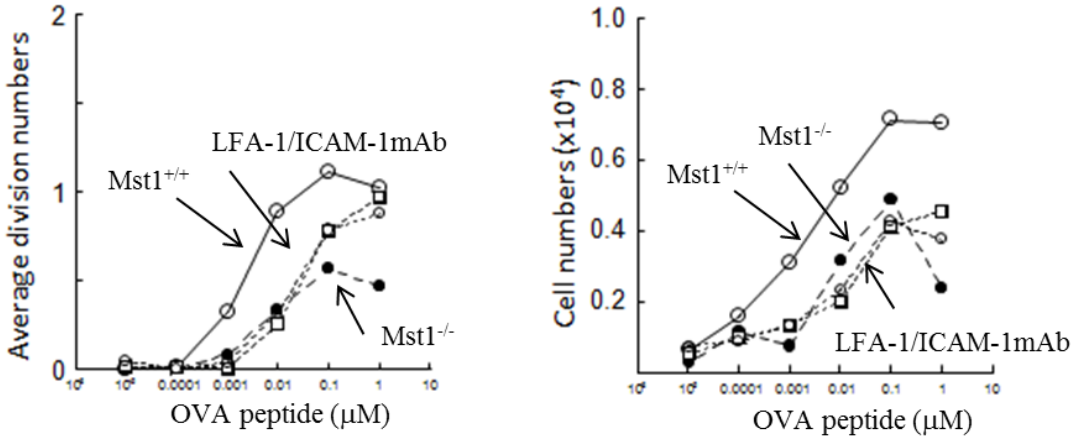


図11　Mst1欠損T細胞の増殖障害
OVA抗原をパルスした樹状細胞とOTII-Mst1+/+, OTII-Mst1-/- T細胞を培養し、48時間後、細胞分裂回数(左)と細胞数(右)を測定。LFA-1, ICAM-1抗体阻害と比較。

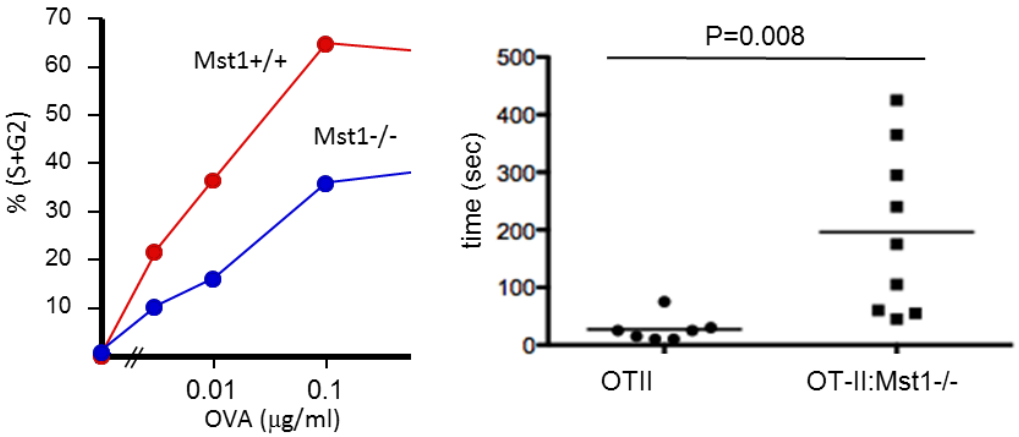


図12　**Mst1**欠損による抗原応答と接着形成障害
(左) **OVA**特異的**OT-II** T細胞および**OT-II:Mst1-/-** T細胞と樹状細胞との共培養後、48時間、**G1+S**期の割合を測定。
(右) 樹状細胞に接触してからカルシウム上昇までの時間。

3)Rab13 による LFA-1 クラスター形成とリンパ球動態の制御:(片桐グループ)

結果:小胞輸送は、Rab ファミリーと呼ばれるたんぱく質群により制御されており60種類以上存在している。RAPL-Mst1 と会合、共局在する Rab 分子を yeast two-hybrid 法、細胞内分布で解析した結果、Rab13 が Mst1 と会合することを見出した。

Rab13 はリンパ球において Mst1 依存性にケモカイン刺激によって活性化され、そのメカニズムとして Rab13 の交換因子である DENND1C はケモカイン依存性に Mst1 によってリン酸化され、Rab13 を活性化することが判明した。Rab13 或いは DENND1C をプロB細胞株 BAF/LFA-1 細胞においてノックダウンすると、LFA-1 クラスターの形成が阻害され(**図14**)、リンパ球の接着・遊走が低下した。活性型 Rab13 は、Mst1 と会合することで輸送小胞にとどまるとともに、ミオシンVと結合して複合体を形成した。また、Mst1 の下流で VASP という細胞骨格制御分子がリン酸化された。これらのことから Mst1 は Rab13 を活性化し、同時にアクチン骨格を発達させ、LFA-1 を含む小胞輸送を誘導していることが考えられる(**図15**)。Rab13 ノックアウトマウスを作成し、リンパ球の接着・移動を検討したところ、LFA-1 クラスター形成の低下とともに、接着、移動の有意な減少が認められた。Rab13 欠損マウスではリンパ球のホーミング活性の低下があり、2次リンパ組織は低形成となっていた。(片桐グループ)

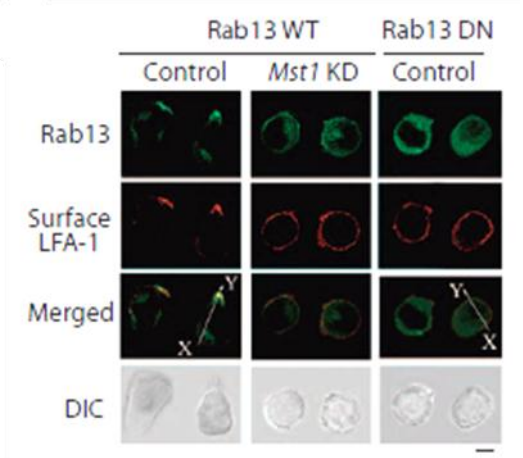


図14 **Rab13**変異体による**LFA-1**クラスター阻害 **BAF/LFA-1**細胞をケモカインで刺激すると先端に**LFA-1**クラスターが形成されるが、**Mst1**ノックダウンおよび**Rab13**優性抑制変異体発現ではクラスター形成と先端膜形成が阻害される。

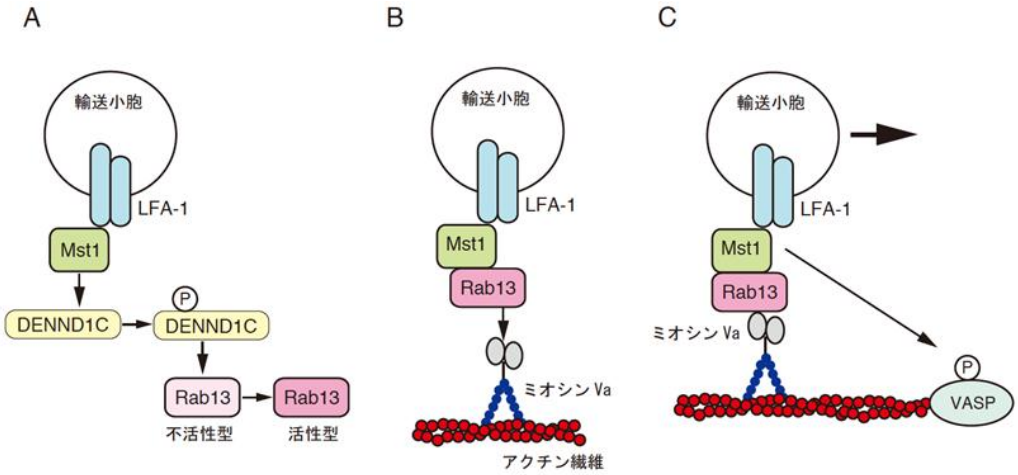


図15 **LFA-1**細胞内輸送メカニズム

A:Mst1がDENND1Cをリン酸化することによりDENND1Cが活性化され、Rab13が活性型になる。

B:活性化したRab13はMst1と結合することにより、LFA－1輸送小胞に結合するとともに、ミオシンVaに結合することにより、LFA－1輸送小胞がアクチン繊維上を動くことができるようになる。

C:VASPがMst1の下流でリン酸化することにより活性化し、目的の方向にアクチン繊維を伸ばしていくことで、LFA－1輸送小胞が運ばれていく。

成果の位置づけ:
RAPL が p27Kip1 による G1 チェックポイントに関与し、その破綻が自己免疫およびリンホーマの発症につながっていることを明らかにできたことは、接着と増殖制御の相互関係に新たな局面を開いた。RAPL は Rassf ファミリーに属する RASSF5 のリンパ球特異的アイソフォーム(Rassf5c)に相当する。このファミリーの代表的分子である Rassf1 はがん抑制遺伝子として機能していることがノックアウトモデル等を用いて示され、様々な癌細胞においてメチル化による発現低下が報告されているが、そのメカニズムの詳細は分かっていない。RAPL のがん抑制遺伝子としての機能はリンホーマ等のがん発症や細胞周期の制御から示され、今後、他のファミリー分子の解析に新たな視点と解析手法論を示した。Mst1 は Hippo 経路としてショウジョウバエでは増殖やアポトーシスを調節して臓器サイズに影響をあたえることが明らかにされている。我々はこれらの研究とほぼ同時期に RAPL の会合因子として Mst1 を見出し、免疫系における接着・動態調節に関与していること、そして抗原提示細胞との免疫シナプス形成と抗原認識の重要な調節因子であることを示し、予想外の機能として注目を集めた。免疫系における Mst1 の下流ターゲットは Hippo 経路とは異なることが予想されるが、Rab13 がターゲットの一つであることを初めて同定した。Rap1 は従来、小胞輸送に関連することが示唆さていたが、具体的機序は不明であった。今回、Rap1 シグナルによって活性化する Mst1 のターゲットの一つとして Rab13 が同定され、小胞輸送による LFA-1 クラスター形成、先端膜形成に重要であることがわかり、これまでブラックボックスであった Rap1 シグナルと小胞輸送とのつながりを明確にできたことは画期的である。また、このシグナル経路がリンパ球ホーミングにおける重要であることが in vivo で明らかにでき、リンパ球動態の新たな制御系として免疫応答や自己寛容にどの様な影響を与えているか解明が期待される。

3．3 接着制御分子破綻と中心性、末梢性自己寛容への影響

目的:自己寛容の成立・維持において接着過程がどのように関与しているか明らかにする。自己反応性胸腺細胞の除去や制御性T細胞の抑制機能について組織イメージング系を確立し、接着動態との関係を追求する。(木梨サブグループ)
方法:胸腺細胞の正・負の選択について TCR トランスジェニックマウスを用いて調べる。H-Y TCR マウスを用いて雌、雄マウスにおける正、負の選択が RAPL 欠損, Mst1 欠損によってどのような影響を受けるか調べる。H-Y 抗原は広範囲に発現し、胸腺細胞の初期から欠失するので、髄質で発現し、欠失が起こる RIP-mOVA と OT-II の系でも負の選択過程について検討する。これらの実験とともに、胸腺内移動、胸腺細胞の移出の異常を調べる。イメージングによる胸腺細胞-胸腺上皮間の動態の解析を胸腺組織スライス系でイメージングを試みる。胸腺上皮細胞における Aire の発現が自己寛容誘導に重要であることから、Aire 依存的に OVA 抗原が胸腺髄質内で発現する RIP-mOVA マウス胸腺組織を用いて OT-II 胸腺細胞の動態を調べ、Mst1-欠損における発現を調べる。これらの解析から動態の異常による正と負の選択への影響を検討する。Treg の発生過程を Foxp3-GFP マウスを用い、Mst1 欠損による上皮細胞との相互作用と Treg の発生への影響を調べる。末梢性自己寛容については Treg の抑制機能を調べる。RAPL-/-、Mst1-/-マウスにおける Treg の抗原特異的 T 細胞応答の抑制機能を in vitro で調べ、正常マウスや OT-II 由来 Treg と比較検討する。また、腸炎モデルを用いて Treg の抑制機能を調べる。これらの系とともに免疫シナプス形成過程における Treg の関与と接着制御分子欠損による影響を調べる。Treg に異常がある場合、Foxp3-GFP マウスを用いて 2 光子顕微鏡による in vivo イメージングを行う。

成果:H-Y 雌マウスでは CD8 陽性細胞が正の選択を受けるが、Mst1 欠損ではその割合が 1/3 程度に減少、また正の選択を受けて生じる CD69+T3.70(anti-HY TCR)+CD8SP の細胞が 70%減少していた(**図16**)。一方、DP 細胞では CD69 発現に差はなかったことから、CD69+ DP 細胞から CD69+SP 細胞への移行過程が障害されていると考えられる。H-Y 雄

マウスでは H-Y 抗原によって DP 細胞から著減するが、Mst1 欠損では DP 細胞が増加する傾向にあったが有意差はなかった。しかし、3 ヶ月齢の時点で末梢リンパ組織に effector/memory 細胞が増加し、皮膚炎、下痢などの症状がみられた。RIP-mOVA マウスに OT-II;Mst1+/+骨髄細胞と OT-II;Mst1-/- 骨髄細胞を移入し、胸腺での選択を調べたところ、Mst1+/+では負の選択を受け、OT-II 陽性成熟 SP 細胞数が減少するが、Mst1-/-では減少が不十分であり、末梢リンパ組織でも OT-II 陽性成熟 T 細胞が 2－3 倍増加していた。

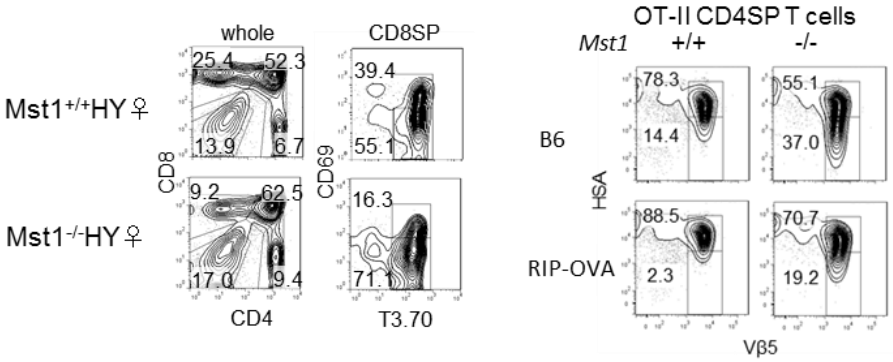


図16　Mst1欠損による胸腺細胞選択の異常
（左）　H-Y抗原による正の選択。H-Y trangenic female miceは正の選択によってCD8陽性細胞が生じるが、Mst1欠損では減少していた（25.4%→9.2%, 39.4%→16.3%)。T3.70はH-Y特異的TCRを示す。
（右）OT-IIマウスにおけるOVA抗原による負の選択。OT-II transgenic miceはOVA抗原の発現によって負の選択をうけ、成熟CD4陽性細胞(Vβ5+ HSA low)が欠失するが、Mst1欠損マウスでは欠失が不十分である。

胸腺組織イメージングについて explant, RTOC, 組織スライスの方法を検討した結果、特定の胸腺細胞の動態や髄質でのイメージングが優れていたことから胸腺の組織スライスを用いたイメージング法を確立した(図17)。

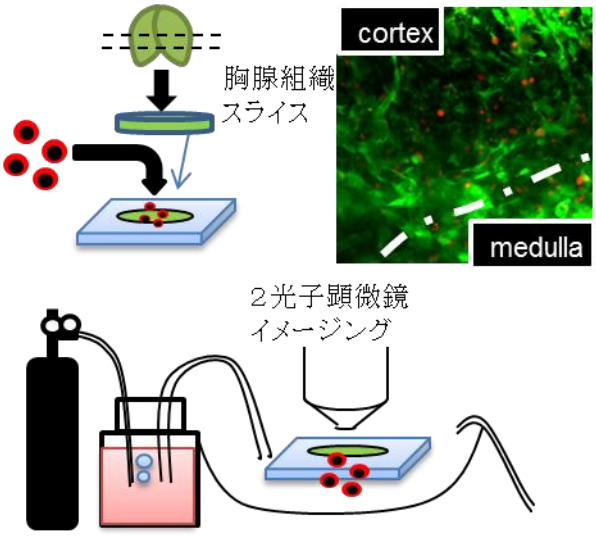


図17　胸腺スライス組織を用いた２光子イメージング。胸腺組織スライスを作成し、アガロースで固定後、ラベルした胸腺細胞を添加し培養する。飽和酸素メディウム還流下に２光子イメージングを行う。

CD4/CD8 陽性 DP, CD4 陽性 SP 胸腺細胞を分取し、胸腺スライスと数時間共培養後、表面から 50μm 以上 200μm の深部を観察した。髄質と皮質の区別するため胸腺は CFP transgenic マウスを用いた。その結果、DP 細胞は主に皮質に限局し、移動速度は平均 5μm/min であり、CD4SP 細胞は主に髄質に限局し、移動速度は 14.3μm/min と亢進していた。LFA-1/ICAM-1 の接着を阻害すると(ICAM-1 欠損あるいは抗体処理)、9μm/min に低下した。DP 細胞の移動は Mst1 欠損による影響はないが、SP 細胞の移動速度が LFA1/ICAM-1 阻害をほぼ同じ程度低下した。CD69+DP は SP 細胞と同様に活発に移動したことから、高い動態能力は正の選択後に獲得されると考えられる。

負の選択過程を可視化するため、髄質における臓器特異的抗原の認識過程をRIP-mOVA 胸腺組織スライスを用いて調べた結果、OT-IISP 細胞の抗原特異的LFA/ICAM-1 依存的クラスター形成が髄質で観察され、クラスターを形成している細胞にCa^{2+} influx の増加がみられた(**図18**)。野生型 SP 細胞はクラスターを形成せず、活発に移動していた。クラスター形成細胞を免疫組織染色で検討した結果、$Aire^{+}ICAM\text{-}1^{hi}$ の mTEC 細胞に SP 細胞が接着してクラスターを形成していた(**図19**)。

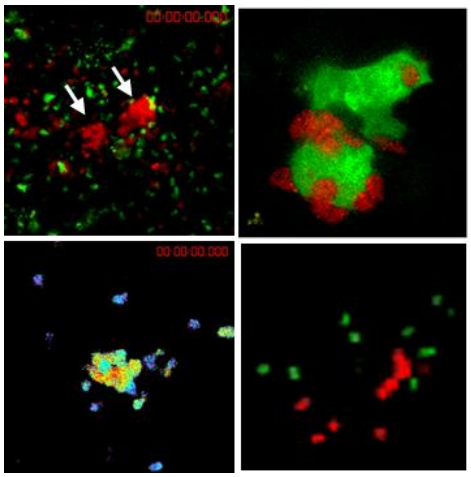


図18　負の選択環境における胸腺細胞とAire陽性細胞の相互作用
(左上) RIP-OVA胸腺組織内のOT-II CD4+細胞(赤)クラスター形成(矢印)。野生型胸腺細胞(緑)はクラスター形成しない。(左下) 負の選択下、クラスターを形成している胸腺細胞の細胞内カルシウム亢進 (右上) Aire-GFP mTECとOT-II胸腺細胞の接着 (右下) 負の選択環境下のMst1欠損OT-II細胞。クラスター形成減少している。

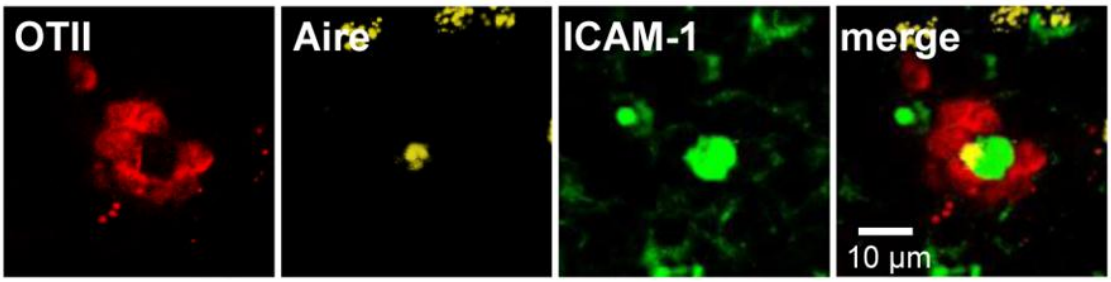


図19　負の選択環境下における胸腺細胞とAire陽性胸腺上皮細胞の接着形成
負の選択環境(RIP-OVA thymus)においてOT-II SP細胞はAire陽性、ICAM-1陽性の胸腺上皮細胞と細胞集塊を形成する。

また、Aire-GFP; RIP-mOVA マウス由来胸腺組織を用いて 2 光子ライブイメージングを行い、Aire+mTEC と密接に接着し、クラスター形成をする場面をとらえることができた(**図18右上**)。Mst1 欠損ではこれらのクラスター形成が低下しており、ICAM-1 依存的クラスターを形成するのに Mst1 が必要であること、Aire 依存的自己抗原の認識過程の障害が Mst1 欠損マウスで障害されていることが示された。

Treg の胸腺内細胞数は Mst1 欠損マウスで減少していたが、末梢リンパ組織では差がなかった。Foxp3-GFP マウスから分取した Treg の抑制機能について調べた結果、Mst1+/+と比較して、Mst1-/- Treg は anti-CD3 抗体を用いた系では増殖抑制機能に影響はなかったが、OT-II;Foxp3-GFP マウス由来 T 細胞および Treg 細胞を用いて抗原特異的増殖反応を調べた結果、増殖の抑制が低下しており(**図20**)、DC 上の CD80 downregulation も不十分であった。腸炎モデルを用いて、Treg の抑制機能を in vivo で調べた結果、Mst1-/-では腸炎発症の抑制が障害されていた(**図20**)。末梢リンパ節におけるイメージングは intravital 法、explant 法があるが、少数の細胞亜集団の解析に不向きであることから、リンパ節組織スライスを使って胸腺組織同様、2光子イメージングをおこない、ナイーブ T 細胞を用いて他の2つの方法と比較検討した。その結果、スライス法は intravital 法、explant 法とほぼ同様の T 細胞組織内移動および DC と

の接着を示した。そこでリンパ節内での Treg の動態を調べるため、組織スライス法を用いて2光子イメージングを行った。OVA 抗原をパルスした樹状細胞(DC)を皮下に投与し、所属リンパ節のスライスを作成後、OT-II:Foxp3-GFP マウスから単離した OT-II T 細胞と Treg をスライス組織に添加し培養後、観察した。その結果、ナイーブ T 細胞は DC と接触すると停止し、移動速度低下が顕著であるが、Treg は DC と接触後、停止せず、移動しながら接着を繰り返していた。一方、Mst1 欠損の Treg は DC と接触しても接着が安定せず、DC からのかい離が起こっていた(**図21**)。Treg の免疫シナプス形成を平面脂質2重膜(ICAM-1/CD80/petide-MHC)を用いて解析した結果、Treg はナイーブ T 細胞と異なり停止せず、移動性のシナプスを形成した。Mst1 欠損 Treg では免疫シナプスの形成が障害されていた(**図22**)。これらの結果から Mst1 は Treg の免疫シナプス形成を調節しており、抗原特異的抑制に重要であることが示された。

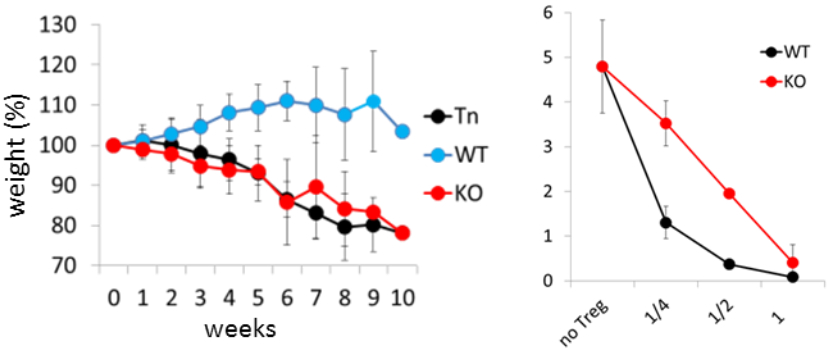
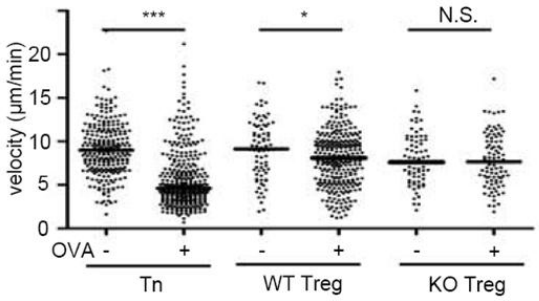


図20　Mst1欠損によるTreg抑制機能障害
(左)T細胞移入による大腸炎モデル。T細胞を移入すると大腸炎が発症し、体重減少が起こるが(Tn)、野生型Treg(WT)を同時に移入すると大腸炎発症が抑制される。Mst1欠損(KO)では抑制されない。(右)抗原特異的Tregの抑制。抗原特異的Treg(WT)によって抗原依存的T細胞増殖が抑制されるが、Mst1欠損Treg(KO)では抑制が低下していた。



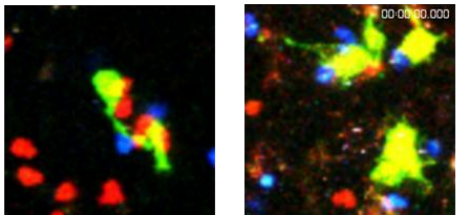


図21　Tregのリンパ節内動態
(上)　OVA特異的OT-II T細胞(Tn,), OT-II Treg(WT), OT-II;Mst1-/-Treg、OVA抗原パルスDC投与後の鼠径リンパ節組織内における移動速度。T細胞は抗原依存的に停止するが、Tregで速度減少は起こるが停止しない。Mst1欠損Tregは速度低下はみられない。
(左下)　リンパ組織内ではOVA抗原提示DC(黄)にナイーブT細胞(青)、Treg(赤)が接着している。(右下)Mst1欠損Treg(赤)は正常T細胞(青)と比較しDCとの接着形成が低下。

成果の位置づけ: Mst1 欠損による接着制御の障害が胸腺細胞選択や制御性 T 細胞機能の障害につながることが明らかになった。免疫系における Mst1 の機能的重要性が、末梢のリンパ球動態だけでなく、自己寛容の成立と維持にかかわっていることを明確にできた意義は大きい。また、自己寛容の場を組織イメージングによってとらえる手法を確立できたことは、Mst1 の機能解明のみならず、これまで詳細が不明であった負の選択過程で、Aire 陽性胸腺上皮細胞が胸腺細胞の相互作用の結果おこる apoptosis 誘導や制御性 T 細胞の発生の詳細な解析が可能になった。制御性 T 細胞の動態について動的免疫シナプスが特徴であることを今回初めて明らかにできた。抗原認識において停止接着を示す通常の T 細胞と異なる特徴が、Aire 陽性胸腺上皮細胞との相互作用による機能的負の選択によって生じたと考えられ、その分子的基盤と抑制機能との関連について解明が期待される。

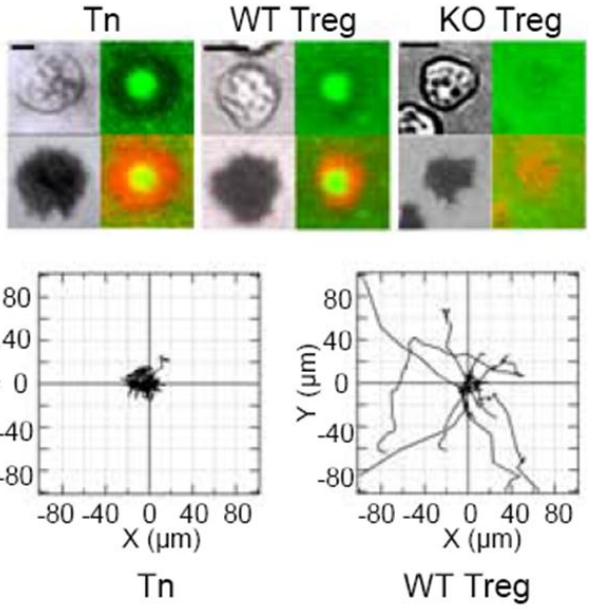


図22 制御性T細胞の免疫シナプス形成
（上） OT-II ナイーブT細胞(Tn), OT-II Treg (WT), Mst1欠損Treg (KO)における免疫シナプス像。各パネルはDIC(左上)、RM(左下)、peptide-MHC(右上)、ICAM-1(赤)とpMHC(右下). Mst1欠損では免疫シナプスが形成されていない。
（下） OT-II ナイーブT細胞とTregの免疫シナプス動態。ナイーブT細胞は停止しているが、Tregは移動している。

研究項目:4. 自己免疫性膵炎および関連するヒト自己免疫疾患群における免疫異常の解析、RAPL, Mst1 遺伝子の突然変異、発現異常の探索。

目的:自己免疫性膵炎は高 IgG4 値を特徴として、膵臓だけでなく唾液腺、肝臓、肺など様々な臓器が障害される多臓器疾患で比較的高齢者が発症することが明らかにされてきている。Mst1 欠損マウスとの類似性があることから、その関連を追及する。特にヒト RAPL, MST1 のプロモーター領域に CpG クラスターが存在することからエピジェネティックな可能性を検討する。IgG4 関連自己免疫性膵炎の制御性T細胞機能の関与を調べる。(岡崎サブグループ、木梨グループ)

方法:免疫異常の解析を行うとともに Mst1 の遺伝子変異(SNP)を調べ、疾患との関連解析を行う。また、Mst1 および RAPL は、promoter 領域に CpG に富む領域があり、メチル化による発現制御を受けている可能性がある。そこで自己免疫性膵炎などの患者血液から採取した DNA を用いて promoter 領域のメチル化解析を行い、自己免疫性膵炎疾患(AIP)との相関関係、他の IgG4 関連疾患の関連解析を進め、他の自己免疫疾患として慢性関節リウマチ疾患(RA)と比較検討する。また、自己免疫性膵炎を含む IgG4 関連全身疾患において自然免疫系の関与および制御性 T 細胞、制御性 B 細胞による病態への関連を調べる。

成果:IgG4 関連自己免疫性膵炎と診断された患者検体 30 名についておこなった結果、膵臓以外に病変を持たない患者群や健常人と比較し、膵外病変(唾液腺、耳下腺、涙腺)を

もつ患者群で MST1 プロモーター領域のメチル化が有意に亢進していた。メチル化部位はプロモーター領域全体に分布していた(**図23**)。

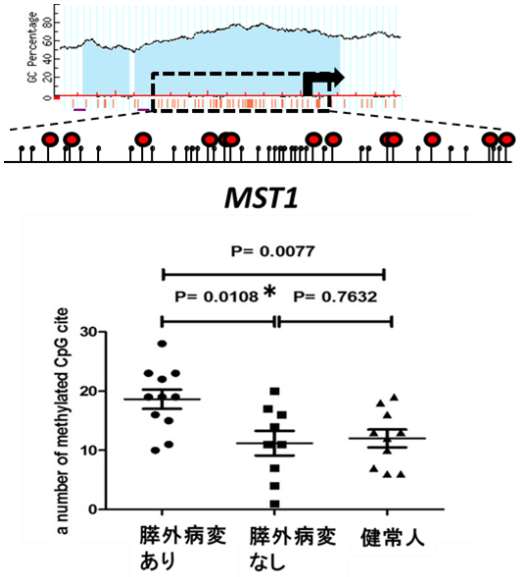


図23　MST1遺伝子のメチル化亢進
(上) MST1プロモーター領域のCpGクラスターとメチル化部位(下) AIP患者(膵外病変あり) 患者群でメチル化部位の数が有意に増加

RA 患者群(20名)では特定の部位のメチル化が見出され、健常人や AIP とは異なるパターンを示した。しかし、メチル化部位の数は健常人および AIP 患者と比較し有意ではなかった。AIP 患者で認められるメチル化は年齢との相関は見られず、膵外病変数と相関していた。RAPL 遺伝子については AIP, RA ともにメチル化の増加は認められなかった。
IgG4 関連疾患 AIP は IgG4 産生に ICOS 陽性制御性T細胞の増殖と分泌される IL-10 の産生亢進が認められた。AIP と同様に膵癌周辺の閉塞性膵炎でも、IgG4 陽性細胞浸潤、制御性 T 細胞浸潤など IgG4 関連疾患と類似する病理組織所見を認めた。また、自己免疫性膵炎を含む IgG4 関連全身疾患では TLR を介する自然免疫系の関与が病因病態に関与し、特に TLR-2,-4,-7 の活性化により BAFF を介した IgG4 産生亢進が認められた。患者末梢血中の IL-10 産生の制御性 B 細胞について制御性 B 細胞には CD19+CD24highCD38high と CD19+CD24highCD27high の2つの亜集団が存在すること、自己免疫性膵炎患者では前者では減少する一方、後者では増加していた。IL-10 を介して IgG4 の産生を亢進することを明らかにした。これらの制御機構に対してグルココルチコイドが産生抑制に極めて有効であることが明らかになった。
成果の位置づけ: IgG4 関連疾患と診断された膵外病変をもつ AIP 患者で Mst1 遺伝子のメチル化が亢進していることを初めて見出した。Mst1 遺伝子変異によるヒト遺伝病は T 細胞性の免疫不全と自己免疫様病態が特徴であることが報告されたが、IgG4 関連疾患では遺伝的素因は報告されていない。今回の結果から、Mst1 はエピジェネティックな制御を受け、IgG4 関連疾患の全身性の病態に関連すると考えられる。IgG4 関連 AIP 患者において制御性 T および B 細胞の異常があり、マウスモデルにおける制御性 T 細胞の発生や機能に Mst1 が重要であることから、Mst1 がヒトにおいても末梢性寛容に重要であることが示唆され、病因・病態の理解および治療開発に重要な発見と考えられる。

§４ 成果発表等

(1)原著論文発表 （国内(和文)誌 0件、国際（欧文）誌 29 件）
（国際）

1. Okazaki K, Yanagawa M, Mitsuyama T, Uchida K. Recent Advances in the Concept and Pathogenesis of IgG4-Related Disease in the Hepato-Bilio-Pancreatic System. ***Gut Liver***. 2014 Sep;8(5):462-470.
2. Katakai T, Kondo N, Ueda Y, and Kinashi T, Autotaxin Produced by Stromal Cells Promotes LFA-1–Independent and Rho-Dependent Interstitial T Cell Motility. 2014;***J Immunol*** 2014; 193:617-626; Prepublished online 16 June, (doi: 10.4049/jimmunol.1400565)
3. Nishikimi A, Ishihara S, Ozawa M, Etoh K,Fukuda M, Kinashi T, Katagiri K. Rab13 acts downstream of the kinase Mst1 to deliver the integrin LFA-1 to the cell surface for lymphocyte trafficking. ***Sci. Signal.*** 7:ra72 (2014) DOI: 10.1126/scisignal.2005199
4. Fukui Y, Uchida K, Sakaguchi Y, Fukui T, Nishio A, Shikata N, Sakaida N, Uemura Y, Satoi S,Okazaki K. Possible involvement of Toll-like receptor 7 in the development of type 1 autoimmune pancreatitis. ***Journal of gastroenterology*** 10.1007/s00535-014-0977-4
5. Sumimoto K, Uchida K, Kusuda T, Mitsuyama T, Sakaguchi Y, Fukui T, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. The role of CD19+ CD24high CD38high and CD19+ CD24high CD27+ regulatory B cells in patients with type 1 autoimmune pancreatitis. ***Pancreatology.*** 2014;14(3):193-200. doi: 10.1016/j.pan.2014.02.004
6. Okazaki K, Uchida K, Sumimoto K, Mitsuyama T, Ikeura T, Takaoka M. Autoimmune pancreatitis: pathogenesis, latest developments and clinical guidance. ***Ther Adv Chronic Dis.*** 2014 May;5(3):104-11. doi: 10.1177/2040622314527120.
7. Okazaki K, Uchida K, Koyabu M, Miyoshi H, Ikeura T, Takaoka M. IgG4 cholangiopathy - Current concept, diagnosis, and pathogenesis. ***J Hepatol.*** 2014 Apr 24. pii: S0168-8278(14)00272-4. doi: 10.1016/j.jhep.2014.04.016.
8. Tomiyama T, Ueda Y, Katakai T, Kondo N, Okazaki K, Kinashi T. Antigen-specific suppression and immunological synapse formation by regulatory T cells require the mst1 kinase. ***PLoS ONE.*** 2013 Sep 9:8(9):e73874.（Doi:10.1371/journal.pone.0073874.）
9. Katakai T, Habiro K, Kinashi T. Dendritic Cells Regulate High-Speed Interstitial T Cell Migration in the Lymph Node via LFA-1/ICAM-1. ***J Immunol.*** 191(3):1188-99. 2013（Doi:10.4049/jimmunol.1300739.）
10. Koyabu M, Uchida K, Sakaguchi Y, Fukata N, Kusuda T, Miyoshi H, Yoshida K, Sumimoto K, Mitsuyama T, Fukui T, Nishio A, Okazaki K. Possible Involvement of Foxp3(+) Regulatory T Cells in the Development of Immune-Mediated Pancreatitis in MRL/Mp Mice Treated with Polyinosinic:Polycytidylic Acid. ***Int J Rheumatol***. 2013：2013:367325.(Doi: 10.1155/2013/367325.)
11. Sumimoto K, Uchida K, Mitsuyama T, Fukui Y, Kusuda T, Miyoshi H, Tomiyama T, Fukata N, Koyabu M, Sakaguchi Y, Ikeura T, Shimatani M, Fukui T, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. A proposal of a diagnostic algorithm with validation of International Consensus Diagnostic Criteria for autoimmune pancreatitis in a Japanese

cohort. ***Pancreatology*** 2013；13：230-7. (Doi: 10.1016/j.pan.2013.02.010.)

12. Fukui Y, Uchida K, Sumimoto K, Kusuda T, Miyoshi H, Koyabu M, Ikeura T, Sakaguchi Y, Shimatani M, Fukui T, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Shikata N, Sakaida N, Uemura Y, Satoi S, Kwon AH, Okazaki K. The similarity of Type 1 autoimmune pancreatitis to pancreatic ductal adenocarcinoma with significant IgG4-positive plasma cell infiltration. ***J Gastroenterol*** 2013；48：751-61. (Doi: 10.1007/s00535-012-0677-x.)
13. Ueda Y., Katagiri K., Tomiyama T., Yasuda K., Habiro K., Katakai T., Ikehara S., Matsumoto M, Kinashi T. Mst1 regulates integrin-dependent thymocyte trafficking and antigen-recognition in the thymus. ***Nat. Commun.*** 2012 Oct 2;3:1098. (doi: 10.1038/ncomms2105.)
14. Sekine K., Kawauchi T., KuboK., Honda T., Herz J., Hattori M., Kinashi T., and Nakajima K.. Reelin controls neuronal migration and positioning by promoting neuronal adhesion to extracellular matrix via the inside-out activation of integrin alpha5beta1, ***Neuron.*** 76:353-369, 2012 (doi: 10.1016/j.neuron.2012.07.020.)
15. Fujii Y., Shiota M, Ohkawa Y., Baba A., Wanibuchi H., Kinashi T., Kurosaki T., Baba Y., Surf4 modulates STIM1-dependent calcium entry, ***Biochem. Biophys. Res. Commun.*** 422:615-20, 2012, (doi: 10.1016/j.bbrc.2012.05.037.)
16. Harada Y., Tanaka Y., Terasawa M., Pieczyk M., Habiro K., Katakai T., Hanawa-Suetsugu K., Kukimoto-Niino M., Nishizaki T., Shirouzu M., Duan X., Uruno T., Nishikimi A., Sanematsu F., Yokoyama S., Stein J.V., Kinashi T., and Fukui Y.. DOCK8 is a Cdc42 activator critical for interstitial dendritic cell migration during immune responses. ***Blood.*** 119:4451-61. 2012 （doi:10.1182/blood-2012-01-407098）
17. Uchida K, Masamune A, Shimosegawa T, Okazaki K. Prevalence of IgG4-Related Disease in Japan Based on Nationwide Survey in 2009. I***nt J Rheumatol.*** 2012;2012:358371. (doi: 10.1155/2012/358371.)
18. Okazaki K, Umehara H. Are Classification Criteria for IgG4-RD Now Possible? The Concept of IgG4-Related Disease and Proposal of Comprehensive Diagnostic Criteria in Japan. ***Int J Rheumatol.*** 2012;2012:357071. (doi: 10.1155/2012/357071.)
19. Uchida K, Kusuda T, Koyabu M, Miyoshi H, Fukata N, Sumimoto K, Fukui Y, Sakaguchi Y, Ikeura T, Shimatani M, Fukui T, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. Regulatory T cells in type 1 autoimmune pancreatitis. ***Int J Rheumatol.*** 2012;2012:795026. (doi: 10.1155/2012/795026.)
20. Hnanawa-Suetsugu K, Kukimoto-Niino M, Mishima-Tsumagari C, Akasaka R, Ohsawa N, Sekine S, Ito T, Tochio N, Koshiba S, Kigawa T, Terada T, Shirouzu M, Nishikimi A, Uruno T, Katakai T, kinashi T, Kohda D, Tukui Y, and Yokoyama S. Structural basis for mutual relief of the Rac guanine nucleotide exchange factor DOCK2 and its partner ELMO1 from their autoinhibited forms. ***Proc Natl Acad Sci USA.***28:109（9）:3305-10（2012）(DOI: 10.1073/pnas.1113512109)
21. Kusuda T, Uchida K, Miyoshi H, Koyabu M, Satoi S, Takaoka M, Shikata N, Uemura Y, Okazaki K. Involvement of Inducible Costimulator- and Interleukin 10-Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-Related Autoimmune Pancreatitis.***Pancreas.***2011;40(7):1120-1130.(DOI: 0.1097/MPA.0b013e31821fc796.)

22. Tomiyama T, Uchida K, Matsushita M, Ikeura T, Fukui T, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. Comparison of steroid pulse therapy and conventional oral steroid therapy as initial treatment for autoimmune pancreatitis. ***J Gastroenterol.*** 2011;46(5):696-704.(DOI: 10.1007/s00535-010-0361-y)
23. Kinashi, T. Overview of integrin signaling in the immune system. ***Methods Mol. Biol.*** 757:261-78 (2012) (DOI: 10.1007/978-1-61779-166-6_17)
24. Kusuda T, Uchida K, Satoi S, Koyabu M, Fukata N, Miyoshi H, Ikeura T, Sakaguchi Y, Yoshida K, Fukui T, Shimatani M, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Uemura Y, Kwon AH, Okazaki K. Idiopathic Duct-Centric Pancreatitis (IDCP) with Immunological Studies. ***Internal Medicine.*** ***2***010; 49(23):2569-2575 (DOI:10.2169)
25. Okazaki K, Uchida K, Fukui T, Takaoka M, Nishio A. Autoimmune pancreatitis-a new evolving pancreatic disease? ***Langenbeck's archives of surgery.*** 2010;395(8): 989-1000 （DOI: 10.1007/s00423-010-0714-2）
26. Katagiri, K., Ueda, Y., Tomiyama, T., Yasuda, K., Toda, Y., Ikehara, S., Nakayama, K.I, Kinashi, T. RAPL deficiency caused lymphoproliferative disorders through the mislocalization of p27kip. ***Immunity.*** 34 1-15. 2011 （DOI:10.1016）
27. Ebisuno Y, Katagiri K, Katakai T, Ueda Y, Nemoto T, Inada H, Nabekura J, Okada T, Kannagi R, Tanaka T, Miyasaka M, Hogg N, Kinashi T Rap1 controls lymphocyte adhesion cascade and interstitial migration within lymph nodes in RAPL-dependent and -independent manners. ***Blood*** 115(4)**:** 804-814. 2010 DOI 10.1182/blood-2009-03-211979
28. Okazaki K, Kawa S, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; Working members of Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: I. Concept and diagnosis of autoimmune pancreatitis. ***J Gastroenterol.*** 2010 Jan 20. DOI 10.1007/s00535-009-0184-x
29. Kawa S, Okazaki K, Kamisawa T, Shimosegawa T, Tanaka M; Working members of Research Committee for Intractable Pancreatic Disease and Japan Pancreas Society. Japanese consensus guidelines for management of autoimmune pancreatitis: II. Extrapancreatic lesions, differential diagnosis. ***J Gastroenterol.*** 2010 Feb 2. DOI 10.1007/s00535-009-0197-5

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 片貝智哉，木梨達雄 リンパ球の高速移動を制御するリンパ節組織支持細胞ネットワーク　細胞工学 33:6(602-608) 2014
2. 木梨達雄　免疫細胞と Hippo Pathway　医学のあゆみ　Vol.251,No.5 455-461 2014
3. 石井　優　編　生体イメージング研究 Update　光が描く 免疫・がん・神経系の時空間動態　PP.50-62 2014 年 南山出版
4. 植田祥啓、木梨達雄　Mst1 による胸腺細胞のインテグリン接着制御と選択機構　医学のあゆみ　Vol.247,No6,565-566　2013
5. 木梨達雄　インテグリンファミリー（LFA-1,VLA-4ICAM-1,VCAM-1）＜Series モデル動物利用マニュアル＞疾患モデルの作成と利用―免疫疾患　（岩倉洋一郎　編）1:515－522, 2011

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演　　（国内会議　5件、国際会議　12件）

（国内）

1. 木梨達雄　Imaging of thymocyte trafficking and antigen recognition: roles of Rap1 signaling in self tolerance　第 3 回御茶ノ水動脈硬化学会　2015 年 1 月　東京
2. 岡崎和一. 消化器領域における IgG4 関連疾患. 第 115 回日本消化器病学会　第 109 回日本消化器内視鏡学会　北海道支部例会,　札幌、2014/09
3. Kinashi T, Katakai T, Ueda Y, Kondo N, Regulation of Lymphocyte “Stop and Go”: Analysis of Lymphocyte Trafficking using Live Imaging Techniques, 第 23 回 CDB ミーティング”Building multicellular systems from cellular cross-talk”, 2013 年 1 月 22 日　神戸
4. 内田一茂、岡崎和一. 自験例よりみた自己免疫性膵炎の治療法とその予後. 第 52 回日本消化器病学会大会　横浜市 2010 年 10 月
5. 楠田武生, 内田一茂, 岡崎和一　自己免疫性膵炎をめぐる新たな展開 自己免疫性膵炎(AIP-LPSP)と好中球病変(IDCP)の免疫学的相違に関する検討　第 52 回日本消化器病学会大会　横浜市 2010 年 10 月

（国際）

1. Kinashi T., Ueda Y., Kondo N., Visualization of thymocyte trafficking and selection processes: the importance of Rap1 signaling and integrins, International Symposium on Multi-dimensional Fluorescence Live Imaging of Cellular Functions and Molecular Activities,　Jan 26th－28th 2015、Kyoto.
2. Kinashi T., Katakai T., Ueda Y., Kondo N.,　Regulation of lymphocyte migration and immunological synapse formation through Rap1 signaling. 九州大学生体防御医学研究所国際シンポジウム"Recent　Advances in Immunology and Inflammation 2014"　11/7-11/8, Fukuoka
3. Okazaki K. Autoimmune pancreatitis. ~ Past, present and future~　Tadashi Takeuchi State-of-the Art Lecture at the joint meeting of Japan Pancreas Society and American Pancreatic Association. Hawaii, November, 2014
4. Okazaki K. Autoimmune pancreatitis and IgG4 related disease in Asia. Asian Pacific Digestive Week 2012. Bangkok, December 8,2012
5. Okazaki k., Clinical Controversies: Medical Management of Autoimmune Pancreatitis. 2012 Joint APA/IAP Annual Meeting · Miami, Florida · October 31 – November 3, 2012
6. Kinashi T.,　Regulation of immune cell trafficking and antigen recognition through Rap1 signaling　The 21st Hot Spring Harbor Symposium jointly with 9th Global COE International Symposium: Cell Migration in Biology and Medicine, Fukuoka Japan, Jan 2012.
7. Koyabu M., Uchida K., Miyoshi H., Kusuda T., Fukata N., Ikeura T., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K.,　Possible role of regulatory T cells in producing IgG4 in the involved organs with autoimmune pancreatitis. DDW2010. New Orleans. 2010/5/6
8. Kinashi.T., Distinct signaling processes in regulation of lymphocyte arrest and adhesion strengthening under shear flow,　The 16th International Vascular Biology Meeting, Los Angeles,USA, June 20 – 24, 2010
9. Uchida K., Kusuda T., Koyabu M., Miyoshi H., Fukata N., Sakaguchi Y., Ikeura T., Yoshida K.,

Shimatani M., Fukui T., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K., Involvement of ICOS and IL-10 positive regulatory T cells in the development of autoimmune pancreatitis. Joint meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society Fukuoka .2010/7/1

10. Uchida K., Koyabu M., Kusuda T., Miyoshi H., Fukata N., Sakaguchi Y., Ikeura T., Yoshida K., Shimatani M., Fukui T., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K., Relationship between T cells and IgG4-positive plasma cells in the involved. International congress of Immunology 2010 , Kobe 2010/10/8
11. Uchida K., Kusuda T., Ikeura T., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T. Shimatani M., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K., Analysis of ICOS and IL-10 positive regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. American Pancreatic Association Meeting, Chicago. 2010/11/6
12. Okazaki K., Autoimmune Pancreatitis-recent concept and the Japanese experience. Annual meeting of Gastroenterological Association of Thailand. Pattaya. 2010/11/17

② 口頭発表　　（国内会議 39件、国際会議 16件）

（国内）

1. Ueda Y., Kondo N.,Ozawa M., Katakai T., and Kinashi T., SEMA3E/Plexin D1 axis controls thymocyte sdhesion and polarization by modulating the Rap1signaling pathway　第 43 回免疫学会学術集会　2014 年 12 月 10 日～12 日 京都
2. 木梨達雄　接着制御による胸腺細胞選択調節　JST CREST「免疫機構」領域第三回シンポジウム　2014 年 10 月 8 日　東京
3. 内田一茂、住本貴美、岡崎和一. 自己免疫性膵炎の各種診断基準の評価に基づく診断アルゴリズムの提案。第 100 回日本消化器病学会総会、東京、2014/04
4. 内田一茂、住本貴美、光山俊行、塩見圭佑、池浦　司、島谷昌明、高岡　亮、岡崎和一。当院における 1 型自己免疫性膵炎の診断アルゴリズムと各種診断基準についての検討。　第 111 回日本内科学会講演会。東京、2014/04
5. 木梨達雄、Rap1シグナルによる胸腺細胞の動態制御機構「酵素学研究拠点シンポジウム」徳島大学藤井節郎記念医学センター　2月7日　2014
6. Katakai T., Kinashi T., Environmental control of high-speed T cell migration in the lymph node 日本免疫学会総会第42回学術集会　幕張　12月11～13　2013
7. 内田一茂、住本 貴美, 岡崎 和一 シンポジウム　自己免疫性膵炎の新たな展開　自己免疫性膵炎の国際コンセンサス基準と改訂診断基準2011の検証 自験例における自己免疫性膵炎の診断に関する検討第44回日本膵臓学会大会、仙台　7月26日 2013
8. 内田一茂、福井 由理, 岡崎 和一, IgG4関連膵胆道疾患の診断と治療 1型自己免疫性膵炎と膵癌の鑑別診断におけるIgG4陽性形質細胞に関する検討第55回日本消化器病学会大会、東京　10月 2013
9. 住本貴美、内田一茂、岡崎和一　International Session（IgG4-related disease and endoscopy）、Importance of endoscopic retrograde pancreatography in diagnosis of segmental/focal type 1 autoimmune pancreatitis.　第55回日本消化器病学会大会、東京　10月 2013
10. Kinashi T., Katakai T., Ueda Y., Kondo N., Regulation of Lymphocyte “Stop and Go” via LFA-1 and ICAM-1: Lymphocyte Trafficking Analysis using Live Imaging Techniques. The 51st Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan　Symposium (Exploring mechanisms

of emerging order in multicellular systems: Cross-talk between moving cell and microenvironment.) 京都国際会館　10月29日　2013

11. 住本貴美、内田一茂、岡崎和一　1型自己免疫性膵炎患者における制御性B細胞の検討 第44回日本膵臓学会大会、仙台 年7月26日 2013
12. 木梨達雄, 接着制御破綻による自己免疫発症の機序、 第１６回中国地区小児免疫宅物療法研究会、2013年3月2日　広島
13. Kinashi T., Mst1 regulates integrin-dependent thymocyte trafficking and antigen recognition in the thymus. 第41回日本免疫学会学術集会シンポジウム 2012年12月5日－7日　　神戸
14. Katakai T., Autotaxin/lysophosphatidic acid axis is required for the optimal interstitial T cell migration within lymph node. 第41回日本免疫学会学術集会 2012年12月5日－7日　　神戸
15. Ueda Y., Crucial roles of LFA-1 regulation in thymocyte trafficking and antigen recognition by Mst1. 第41回日本免疫学会学術集会 2012年12月5日－7日　　神戸
16. Tomiyama T., Roles of Mst1 in antigen-specific suppressor function of regulatory T cells. 第41回日本免疫学会学術集会 2012年12月5日－7日　　神
17. Ishihara　S.,　Lymphocyte　arrest was induced by the binding of active Rap1 to filamins. 日本免疫学会、神戸、2012 年12月6日
18. 木梨達雄　免疫細胞の組織内動態制御：イメージング手法による接着制御とその破綻の解析　第二回癌・免疫若手セミナー　2012年9月21日　　関西医科大学枚方病院13階講堂
19. 木梨達雄、片貝智哉、植田祥啓、羽廣克嘉　関西医科大学附属生命医学研究所分子遺伝学部門　　免疫細胞の組織内移動と停止の制御：イメージング手法による接着制御の解析　バイオイメージング学会　　2012年8月28日　京都国際会館
20. 内田一茂、岡崎和一、正宗　淳、下瀬川徹 IgG4関連疾患における性差について第8回消化器病における性差医学・医療研究会 京都 2012/08
21. 山科雅央、西尾彰功、岡崎　敬、中山新士、福井寿朗、内田一茂、岡崎和一 自己免疫性膵炎発症マウスにおける膵外病変の検討 第29回日本胆膵病態・生理研究会 京都 2012/06
22. 楠田武生､内田一茂､岡崎和一 IgG4関連疾患としての自己免疫性膵炎（AIP type 1;LPSP）と好中球病変（AIP type 2;IDCP）における免疫学的相違に関する検討 第29回日本胆膵病態・生理研究会 京都 2012/06
23. 富山　尚、内田一茂、岡崎和一　１型自己免疫性膵炎（type 1 AIP）に対する初期治療としてのステロイドパルス療法の検討 第29回日本胆膵病態・生理研究会 京都 2012/06
24. 住本貴美, 内田一茂, 福井由理, 三好秀明, 坂口雄沢, 池浦　司, 島谷昌明, 高岡　亮, 岡崎和一 当科における自己免疫性膵炎の診断能に関する検討 第39回日本膵臓学会大会 山形 2012/06
25. 山科雅央、西尾彰功、岡崎　敬、中山新士、福井寿朗、内田一茂、岡崎和一 自己免疫性膵炎マウスにおける膵外病変の検討 第39回日本膵臓学会大会 山形 2012/06
26. 中山新士、西尾彰功、山科雅央、岡崎　敬、福井寿朗、内田一茂、坂口雄沢 アルコール性慢性膵炎の発症における自然免疫／獲得免疫の関与の検討 第39回日本膵臓学会大会 山形 2012/06
27. 内田一茂、池浦　司、岡崎和一 自験例よりみた自己免疫性膵炎の長期予後 第39回日

本膵臓学会大会 山形 2012/06

28. 内田一茂、西尾彰功、岡崎和一 IgG4関連肝胆膵疾患における制御性T細胞に関する検討 第49回日本消化器免疫学会 鹿児島 2012/06
29. Kazushige Uchida, Kazuichi Okazaki. Recent Advances in Autoimmune Pancreatitis. 第98回日本消化器病学会総会 東京 2012/04
30. 池浦司, 高岡亮, 内田一茂, 島谷昌明, 三好秀明, 楠田武生, 岡崎和一 疼痛症状のある慢性膵炎患者に対する_成分栄養剤（エレンタール®）の有用性 第98回日本消化器病学会総会 東京 2012/04
31. 富山　尚、内田一茂、岡崎和一 自己免疫性膵炎 におけるステロイドパルス療法の有用性 第98回日本消化器病学会総会 東京 2012/04
32. 木梨達雄「Rap1 シグナルによるリンパ球動態の制御機構」　新学術研究「動く細胞と場のクロストークによる秩序の生成」第 1 回 公開シンポジウム 「動く細胞と場を読む」2012 年 1 月
33. 木梨達雄「イメージングによるリンパ球組織内移動の調節とその破綻の解析」第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会　2011 年 11 月　東京
34. Katakai T., Kinashi T., High-speed interstitial T cell migration within lymph node parenchyma involves LFA-1-dependent and -independent motility modes. 2011 The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Chiba Japan, Nov. 2011
35. Ueda Y., Katagiri K., Tomiyama T., Yasuda K., Habiro K., Katakai T., Ikehara S., Kinashi T., Mst1 regulates thymocyte trafficking and antigen recognition within thymic tissues. 2011 The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Chiba Japan, Nov. 2011
36. 木梨達雄　「接着制御シグナルの破綻と自己免疫疾患」　ＣＲＥＳＴ「免疫機構」領域　第二回シンポジウム　2011 年 9 月
37. 片貝智哉, 木梨達雄 “ICAM-1 に対する LFA-1 依存的接着はリンパ節より単離したストローマ細胞上における T 細胞の高速移動に関与する／Laf-1dependent adhesion to ICAM-1 contributes to high-velocity migration of primary T cells on stromal cells isolated from lymph nodes” 第 39 回　日本免疫学会総会・学術集会（大阪国際会議場）December 2-3 2009
38. 河田美穂, 吉田行輝, 片桐晃子, 木梨達雄 “Rap1-RAPL によるリンパ球接着カスケードの制御／Rap1 controls lymphocyte adhesion cascade in RAPL-dependent and –independent manners” 第 39 回　日本免疫学会総会・学術集会（大阪国際会議場）December 2-3 2009
39. 植田祥啓, 片桐晃子, 安田鐘樹 ,富山尚, 片貝智哉, 羽廣克嘉, 池原進, 木梨達雄, “T 細胞の恒常性と免疫寛容における Mst1 キナーゼの役割／The Ste20-loke kinase Mst1is essential for maintenance of T cell homeostasis and immunological tolerance” 第 39 回　日本免疫学会総会・学術集会（大阪国際会議場）December 2-3 2009

（国際）

1. Kimi Sumimoto, Kazushige Uchida, Toshiyuki Mitsuyama, Yuri Fukui, Takeo Kusuda, Hideaki Miyoshi, Norimasa Fukata, Masanori Koyabu, Yutaku Sakaguchi, Tsukasa Ikeura, Masaaki Shimatani, Toshiro Fukui, Mitsunobu Matsushita, Makoto Takaoka, Akiyoshi Nishio, Kazuichi

Okazaki. Regulatory B Cells in Type 1 Autoimmune Pancreatitis. DDW2014・Chicago, IL,USA 2014/05

2. Ikeura T, Takaoka M, Uchida K, Shimatani M, Miyoshi H, Fukui Y, Sumimoto K, Okazaki K. Which has a higher risk for developing pancreatic cancer, autoimmune pancreatitis or ordinary chronic pancreatitis? The 4th International Forum at the 100th General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology. Tokyo. 2014/04
3. Kimi Sumimoto, Kazushige Uchida, Toshiyuki Mitsuyama, Yuri Fukui, Takeo Kusuda, Hideaki Miyoshi, Norimasa Fukata, Masanori Koyabu, Yutaku Sakaguchi, Tsukasa Ikeura, Masaaki Shimatani, Toshiro Fukui, Mitsunobu Matsushita, Makoto Takaoka, Akiyoshi Nishio, and Kazuichi Okazaki. Comparison of IgG4-positive Plasma Cell Infiltration Between Type 1 Autoimmune Pancreatitis and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Based On Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. The 2nd International Symposium on IgG4-RD and Associated Conditions. Honolulu, HA, USA. 2014/02
4. Kazushige Uchida, Yuri Fukui, Toshiyuki Mitsuyama, Kimi Sumimoto, Tsukasa Ikeura, Yutaku Sakaguchi, Masaaki Shimatani, Toshiro Fukui, Mitsunobu Matsushita, Makoto Takaoka1, Akiyoshi Nishio, Kazuichi Okazaki. Comparison of IgG4-positive Plasma Cell Infiltration Between Type 1 Autoimmune Pancreatitis and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Based On Comprehensive diagnostic criteria for IgG4-related disease (IgG4-RD), 2011. The 2nd International Symposium on IgG4-RD and Associated Conditions. Honolulu, HA, USA. 2014/02
5. Uchida K.,Kusuda T., Sumimoto K., Uchida K., Fukui Y., Kusuda T., Miyoshi H., Fukata N., Koyabu M., Sakaguchi Y., Ikeura T., Shimatani M., Fukui T., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K., Increased peripheral CD19+CD24hiCD38hi regulatory B Cells may be involved in the pathophysiology of type 1 autoimmune pancreatitis. DDW2013 Orkando、Florida、2013/5/19
6. Okazaki K., Autoimmune pancreatitis Asian Pacific Digestive Week 2013 World Congress of Gastroenterology Shanghai,2103/9
7. Okazaki K., IgG4 cholangitis Asian Pacific Digestive Week 2013 World Congress of Gastroenterology Shanghai,2103/9
8. Okazaki K., Autoimmune pancreatitis, diagnosis and differentiation Asian Pacific Digestive Week 2013 World Congress of Gastroenterology Shanghai,2103/9
9. Okazaki K., Satellite Symposium : Clinical Validation of International Consensus Diagnostic Criteria & Algorithm for Autoimmune Pancreatitis IAP&KPBA2013 Seoul, 2013/9/6
10. Sumimoto K., Uchida K., Fukui Y., Kusuda T., Miyoshi H., Norimasa Fukata N., Koyabu M., Sakaguchi Y., Ikeura T., Shimatani M., Fukui T., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K., Comparison of International Consensus Diagnostic Criteria and Major Diagnostic Criteria for Autoimmune Pancreatitis. DDW2012 San Diego, California, USA 2012/05
11. Kinashi T., Katagiri K., Katakai T., Ueda Y., Habiro K., Crucial roles of Mst1 and RAPL (RASSF5) in lymphocyte adhesion and proliferation. 2nd International RASSF Symposium, Oxford UK, July 2011

12. Kinashi T., Katagiri K., Katakai T., Ueda Y., Habiro K.,Cell migration and antigen recognition within lymph nodes and thymus. London Research Institute Cancer Research UK, London UK, July 2011
13. Katagiri K., Deficiency of RAPL causes lymphoproliferative disorders through the mislocalization of p27kip1, 2nd RASSF meeting, Oxford, UK, 2011 年 7 月 14 日
14. Katakai T., Kinashi T., 「Dynamic LFA-1/CAM-1 adhesion contributes to high-velocity migration of primary T cells on stromal cells isolated from lymph nodes」14th International Congress of Immunology, Kobe, August 23-27, 2010
15. Kim M., Katagiri K., Katakai T., Ebisuno Y., Ueda Y., Okada T., Kinashi T., 「Mst1 controls lymphocyte trafficking and interstitial motility within lymph nodes.」 14th International Congress of Immunology , Kobe , August 23-27, 2010
16. Kinashi T., Katagiri K., Katakai T., Ueda Y., Habiro K., Department of Molecular Genetics, Kansai Medical University, Osaka, Japan. 「Crucial roles of Mst1 and RAPL (RASSF5b) in lymphocyte adhesion and proliferation」The second workshop on the HIPPO tumor suppressor pathway, Rome, Italy, Nov 2-5, 2010

③ ポスター発表　　（国内会議　17件、国際会議　15件）

（国内）

1. Ueda Y., Kondo N., Kinashi T., Sema3E-Plexin signals regulate thymocyte migration by modulating Rap-1-dependent integrin activation, The 37th NAITO CONFERENCE ON Bioimaging-a paradigm shift for the life sciences (**ポスター番号** PS[I]-39)　July 15-18, 2014, Niseko, Hokkaido, Japan
2. Kondo N., Ueda Y., Kataka T., and Kinashi T., Single molecule measurement of ICAM-1/LFA-1 and the role of effector molecules on ICAM-1/LFA-1 regulation using total internal reflection microscopy, The 37th NAITO CONFERENCE ON Bioimaging-a paradigm shift for the life sciences (**ポスター番号** PS[I]-17)　July 15-18, 2014,　Niseko, Hokkaido, Japan
3. Kondo N., Ueda Y., Katakai T., Kinashi T.,　Live-imaging analysis of LFA-1/ICAM-1 and roles of Mst1 in immunological synapse formation using primary T lymphocytes 日本免疫学会総会第42回学術集会　　幕張　12月11～13　2013
4. Ozawa M., Katakai T., Ueda Y., Lee S.I., Kinashi T., Crucial roles of Mst1for antigen recognition during T cell-APC interactions. 日本免疫学会総会第42回学術集会　　幕張　12月11～13　2013
5. 内田一茂、岡崎和一 IgG4 関連胆膵疾患における ICOS 陽性制御性 T 細胞による IgG4 産生機序に関する検討 第 40 回日本臨床免疫学会 東京 2012/09
6. Suda H.,　Regulation of LFA-1/ICAM-1-dependent adhesion and migration by Rab13. 日本免疫学会、神戸、2012 年 12 月 6 日
7. Shimizu H.,　Critical roles of Spa-1 in chemokine-induced Rap1 activation. 日本免疫学会、神戸、2012 年 12 月 6 日
8. 内田　一茂，楠田　武生，小藪　雅紀，三好　秀明，住本　貴美，福井　由理，池浦　司，島谷　昌明，高岡　亮，岡崎　和一 IgG4 関連胆・膵病変における IgG4 産生機序と制御性 T 細胞の意義 第 109 回日本内科学会講演会 京都 2012/04

9. Hbiro K.., Katakai T., Kinashi T.,　Two-step model of T cell-DC primary contacts and roles of integrin-regulatory Mst1.2011 The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Chiba Japan, Nov. 2011
10. 金みんす、Rab13 is critical for LFA-1 clustering required for lymphocyte migration、第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉市、2011 年 11 月 29 日
11. 岡崎 和一、内田 一茂 IgG4 関連疾患としての肝胆膵病変における制御性Ｔ細胞と IgG4 陽性形質細胞の検討　JDDW2011　2011/10　福岡市
12. Kazuichi Okazaki,Hisanori Umehara. Concept of IgG4-related Disease and Proposal of Comprehensive Diagnostic Criteria in Japan. 第20回日本シェーグレン症候群学会 2011/09 金沢市
13. 内田一茂、小藪雅紀、岡崎和一 IgG4 関連疾患としての肝胆膵病変における制御性 T 細胞と IgG4 陽性形質細胞の検討第 97 回日本消化器病学会総会 2011/05 東京
14. 内田一茂、岡崎和一　パネルディスカッション自験例よりみた自己免疫性膵炎の診断に関する検討　第４２回日本膵臓学会大会　2011/07　弘前市
15. 内田 一茂、西尾 彰功、岡崎 和一　IgG4 関連疾患における IgG4 陽性細胞と制御性 T 細胞に関する検討　第 48 回日本消化器免疫学会総会　2011/07　金沢市
16. 楠田武生、内田一茂、三好秀明、福井由理、小藪雅紀、深田憲将、坂口雄沢、吉田勝紀、 福井寿朗、池浦 司、島谷昌明、高岡 亮、西尾彰功、岡崎和一. 自己免疫性膵炎(AIP)における IL-10 と ICOS 陽性制御性 T 細胞に関する検討. 第 21 回日本サイトメトリー学会.2011/06.京都
17. 吉田行輝, 河田美穂,福田光則, 木梨達雄, 片桐晃子　“Rab 蛋白質によるリンパ球極性形成と遊走の制御／Regulation of lymphocyte polarization and motility by Rab protains” 第 39 回　日本免疫学会総会・学術集会（大阪国際会議場）December 2-3 2009

（国際）

1. Ueda Y., Kondo N.,Ozawa M., and Kinashi T., Visualization of Rap1 activation during thymocyte development within the thymic tissues by 2-photon microscopy, International Symposium on Multi-dimensional Fluorescence Live Imaging of Cellular Functions and Molecular Activities,　Jan 26th－28th　2015、Kyoto.
2. Kinashi T., Kondo N., Single-Molecule Analysis of LFA-1/ICAM-1 Binding in Lymphocyte. Biophysical Society 58th Annual Meeting. The Moscone Center, San Francisco USA. 15th - 19th Feb, 2014.
3. Katakai T. and Kinashi T., High-speed interstitial T cell migration in lymph node parenchyma requires LFA-1-dependent and -independent mechanisms controlled by stromal cells, 40th keystone symposia, Breckenridge, USA, Jan .2012
4. Ueda Y., Katagiri K., Tomiyama T., Yasuda K., Habiro K., Katakai T., Ikehara S. and Kinashi T., Regulation of thymocyte trafficking and antigen recognition within thymic tissues through integrins and Rap1 effector Mst1, 40th keystone symposia, Breckenridge, USA, Jan .2012
5. Habiro K., Katakai T., Kinashi T., Two-step model of T cell-DC primary contacts and roles of integrin-regulatory Mst1, 40th keystone symposia, Breckenridge, USA, Jan .2012
6. Katagiri K., Deficiency of Rap1 binding protein　RAPL causes lymphoproliferative disorders through the mislocalization of p27kip1, 40th keystone symposia, Breckenridge, USA, 2012　1

月 10 日

7. Uchida K., Kusuda T., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T., Nishio A., Okazaki K., Possible role of ICOS and IL-10 Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. American Pancreatic Association Meeting. 2011/11. Chicago, USA.
8. Uchida K., Kusuda T., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T., Nishio A., Okazaki K., Possible role of ICOS and IL-10 Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. American Pancreatic Association Meeting. 2011/11. Chicago, USA.
9. Okazaki K., Sumimoto K., Ikeure T., Uchida K., Takaoka M., HOW to recognize the mimickers of pancreas cancer in AIP? Japanese experience. Joint Meeting of the 4th Asian- Oceanic Pancreas Association and 2011 Annual Congress of the Korean Pancreatobiliary Association 2011/09. Jeju, Korea
10. Nakayama S., Nishio A., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T., Uchida K., Kazuichi Okazaki. The Participation of innate and Acquired Immunity of Alcoholic Chronic Pancreatitis DDW2011 2011/05 Chicago, USA.
11. Kusuda T.,Uchida K., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T., Nishio A., Okazaki K., Involvement of ICOS and IL-10 Positive Regulatory T Cells in the Development of IgG4-related Autoimmune Pancreatitis. DDW2011 2011/05 Chicago, USA
12. Uchida K., Kusuda T., Miyoshi H., Ikeura T., Sakaguchi Y., Yoshida K., Fukui T., Shimatani M., Matsushita M., Takaoka M., Nishio A., Okazaki K., Possible role of ICOS positive and IL-10 producing regulatory T cells in patients with autoimmune pancreatitis. Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and Indian Pancreas Club Kochi, Kerala, India 2011/02
13. Yamaoka R., Katagiri K., Kannagi R., Hogg N., Kinashi T., Rap1 controls lymphocyte adhesion cascades in RAPL-dependent and-independent manners. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August, 23-27, 2010
14. Habiro K., Katakai T., Ueda Y., Kinashi T., Quantitative analysis of the effect of T cell priming and fate determination upon T and dendritic cell, 14th International Congress of Immunology , Kobe, August 23-27, 2010
15. Ueda Y., Katagiri K., Yasuda K., Tomiyama T., Habiro K., Katakai T., Ikehara S., Kinashi T., The Ste20-like kinase Mst1 is essential for maintenance of T cell homeostasis and immunological tolerance., 14th International Congress of Immunology , Kobe August 23-27, 2010

(4)報道等

①マスコミ(新聞・TV等)報道

新聞報道: 日経産業新聞 2011 年 1 月 5 日（水）7 面

論文の研究成果について取り上げられた。“ RAPL deficiency caused lymphoproliferative disorders through the mislocalization of p27kip.“ Immunity. 34 1-15. 2011

JST プレス発表

1. 2014 年 7 月 30 日「リンパ球の細胞接着の制御機構を解明～免疫念病の治療法の開発へ

期待」 Rab13 acts downstream of the kinase Mst1 to deliver the integrin LFA-1 to the cell surface for lymphocyte trafficking. ***Sci. Signal.*** 7:ra72 (2014) DOI: 10.1126/scisignal.2005199

2. 2010年12月31日 「接着制御分子(RAPL)の破綻による自己免疫疾患発症機構の解明」 RAPL deficiency caused lymphoproliferative disorders through the mislocalization of p27kip. Immunity. 34 1-15. 2011

§５ 研究期間中の活動

５．１　主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
平成 23 年 7 月 30 日	オープンキャンパス内「国民との科学・技術対話」	関西医科大学附属枚方病院	204 人（学生 94 人・一般・保護者 110 人）	研究内容についてのパネル展示・スライド。研究者による説明・質疑応答
平成 24 年 8 月 12 日	国民との科学・技術対話	関西医科大学附属病院	392 人（学生 137 人・一般・保護者 255 人）	研究内容についてのパネル展示・スライド。研究者による説明・質疑応答
平成 25 年 8 月 3 日	国民との科学・技術対話	関西医科大学枚方学舎 1 階オープンラウンジ	383 人（学生 218 人・一般・保護者 165 人）	研究内容についてのパネル展示・スライド。研究者による説明・質疑応答
平成 26 年 8 月 2 日	国民との科学・技術対話	関西医科大学枚方学舎 1 階オープンラウンジ	286 人（学生 145 人・一般・保護者 141 人）	研究内容についてのパネル展示・スライド。研究者による説明・質疑応答

§6 最後に

CREST プロジェクトに関して、所期の目的をほぼ達成できたと思う。接着制御の観点から自己寛容の成立や維持にかかわる領域に踏み込めたのは CREST による支援があって初めて可能になった。特に予算に関して、特にイメージング装置に関して多額の費用がかかったが、追加予算措置をしていただき、無事に目標を達成することができた。領域代表・アドバイザーの先生方および JST 関係者に深く感謝いたします。また、臨床的な応用に関してこのプロジェクトを通じてつながりが出てきたことは大きい。方法論的にはまだ不十分な点があるが、技術的な基盤は立ち上がってきたので、さらに応用展開にむけて研究を推進したい。チーム間連携については非常にうまくいっており、プロジェクト終了後も共同研究が続く予定である。途中、大学・研究所の移転にともなう研究の中断があり、特に遺伝子改変マウスに関して半年から1年の遅れをとったのが残念であった。そのため、一部の実験に関して期間内に終了できない見通しであるが、全体的な目標の遅れにならなかったのは幸いであった。本プロジェクトは技術的にも成果の見通しについてもチャレンジする部分が多かったが、この経験を生かして今後の研究展開につなげていきたい。

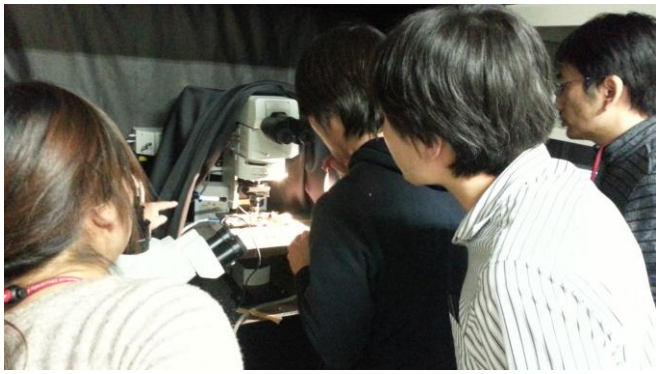


写真:2 光子レーザー顕微鏡によるイメージングの様子