

2001. 276 : 36849-36856.

- 2) K Kataoka, H Handa and M Nishizawa. Induction of cellular anti-oxidative stress genes through heterodimeric transcription factor Nrf2/smallMafby anti-rheumatic gold (I) compounds. **J Boil Chem** 2001. 276 : 34074-34081.
 - 3) Y Yamaguchi, J Filipovska, K Yano, A Furuya, N Inukai, T Narita, T Wada, S Sugimoto, M.M.Konarska and H Handa : Stimulation of RNA polymerase II elongation by Hepatitis delta antigen. **Science** 2001. 293 : 124-127.
 - 4) Y Yamaguchi, T Narita, N Inukai, T Wada and H Handa : SPT Genes: Key players in the regulation of transcription, chromatin structure and other cellular processes. (review) **J Biochem** 2001. 129:185-191.
 - 5) K-I.Ishizu, H Watanabe, S-I.Han, S-N.Kanesashi, M Hoque, H Yajima, K Kataoka and H Handa : The roles of disulfide linkage and calcium ion-mediated interactions in assembly and disassembly by virus-like particles composed of SV40 VP1 capsid protein. **J Virol** 2001. 75 : 61-72.
2. 学会発表
- 1) 半田 宏 : 新規アフィニティ精製技術開発とそれからの展開. 日本蛋白質科学会 第1回年会. 大阪. 平成13年6月1-3日

- 2) 半田 宏 : 創薬プロテオミクスの新戦略-Affinity beads の構築とその応用-. CBI (情報計算法学生物学会) 2001 年大会. 東京. 平成13年7月25-27日
- 3) H Handa : New Approach to Proteomics for Drug Discovery -Construction of New Affinity Beads and Its Application-. US-JAPAN Joint Symposium on Chemistry-Biology Interface Bioscience Symposium in Kumamoto University 2001.熊本.平成13年7月27-28日
- 4) 半田 宏 : アフィニティビーズの開発と応用. 第19回バイオテクノロジーシンポジウム.東京. 平成13年10月31日

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
特許出願中
- 1) 特願 2001-294907 出願日 2001.09.27
「新規化合物、固定化物及び蛋白質のスクリーニング方法」
 - 2) 特願 2001-380423 出願日 2001.12.13
「免疫抑制剤標的分子の探索方法と免疫抑制剤標的分子を用いた新規免疫抑制剤探索方法」
 - 3) 特願 2002-27156 出願日 2002.2.4
「フェライト結合有機物質及びその製造方法」

食物抗原・ペプチドによるアレルギー応答抑制機構の解明と治療応用

分担研究者 日比 紀文 慶應義塾大学医学部内科 教授

研究要旨

腸内細菌からの腸管粘膜からの刺激が腸炎発症に重要であり、これらの刺激は Th1 型免疫反応誘導を主体とする。しかし、食物アレルギーでは、Th2 型免疫反応誘導を惹起することに着目し、慢性大腸炎治療へ食物アレルギー反応を応用することを試みた。

A. 研究目的

食物アレルギーが成人におけるアレルギー疾患発症の誘因になっている可能性が考えられている。食物アレルギーの軽快・消失は腸管粘膜免疫系の成熟、経口免疫寛容により起こると考えられているが、詳細は不明であり、この機序が解明できればアレルギー疾患の治療そのものに結びつくと考えられる。食物アレルギーにより誘導される Th2 型免疫反応が健常状態に引き起こされるとアレルギーという病態に直結すると考えられる。本研究では、そのプロトタイプとして、経口抗原により誘導した Th2 型免疫反応が Th1 型免疫反応が主体と考えられている慢性腸炎治療に可能性かどうかを追究する目的で、マウス慢性腸炎モデルを用いて基礎検討を行った。さらには、特殊な環境・刺激下において、Th2 型のみならず、Tr1 型調節性 T 細胞の誘導機構に関する基礎実験を行う。分担研究者半田らの食物アレルギー、食餌抗原・ペプチド生体側受容体の分離の同定、食餌抗原・ペプチド誘導免疫反応の解析と併行して、食物抗原・ペプチドによるアレルギー応答抑制機構の解明を行うことを目的としている。

B. 研究方法

- 1) OVA TCR トランスジェニックマウスへ単回の OVA 懸濁液経口投与を行い、経口免疫寛容誘導を行い、Th1/Th2 型サイトカインの変動を脾細胞、小腸パイエル板細胞にて検討した。
- 2) 数回の OVA 懸濁液経口投与を行い、Th2 型アレルギーモデルの作製を行い、Th1/Th2 型サイトカインの変動を脾細胞、小腸パイエル板細胞にて検討した。Th1 型慢性大腸炎モデル、CD4+CD45RBhigh 移入モデルの作製を行った。

本モデルにおいて、移入直後より、既存未遭遇ペプチド OVA 懸濁液を複数回、経口投与を行った。Th2 型免疫反応の誘導による腸炎発症抑制効果を、体重、組織学的、サイトカイン産生を用いて検定した。

2) さらに、OVA 経口摂取と同時に、(1)組み替えマウス IL-10 を腹腔内投与、または(2)ビタミン D 3 および Dexamesason の腹腔内投与を行い、腸管内調節性 T 細胞(Tr1)の誘導を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトの題材を扱っていないので、倫理面では問題がないと思われる。

マウスの使用に当たっては、本学動物実験委員会の倫理規定に従った。

C. 研究結果

- 1) OVA 少数回、経口投与により経口免疫寛容の成立を確認し、OVA ペプチドに対する増殖反応性およびサイトカイン産生能の低下を認めた。
- 2) さらに継続投与することにより、Th2 型免疫反応が優位となり、アレルギー性大腸炎の発症を誘導した。
- 3) OVA 経口摂取および(1)組み替えマウス IL-10 を腹腔内投与、または(2)ビタミン D 3 および Dexamesason の腹腔内投与を行うことにより、脾臓、腸間粘膜内に CD4+CD25+ の Tr1 分画の増加を誘導した。
- 4) Th2 型反応および Tr1 型反応誘導により Th1 型 CD4+CD45RBhigh 移入モデル腸炎発症抑制効果と Th1 型サイトカイン産生の抑制を認めた。

D. 考察

Th1 型免疫反応を主体とする病態にも、Th2 型

免疫反応の誘導可能な細胞集団が存在することが明らかとされた。さらに、特殊の刺激下においては Th1 型免疫反応も選択的に誘導され、腸炎発症抑制効果を認めた。さらに、腸炎発症後での Th1 型反応を Th2 や Tr1 型免疫反応へのシフトを誘導可能であるかは現在、検討中であり、ヒト炎症性腸疾患への応用へのステップとしては極めて重要である。今後、ヒト炎症性腸疾患を含む慢性腸炎における特定の外来抗原（食物抗原、腸内細菌抗原）、自己抗原が明らかでない現状において、食物アレルギーなど有望な Th2 インデューサーを同定し、応用することはアレルギー疾患の治療のみならず、Th1 型優位な慢性大腸炎を含む自己免疫疾患の新規治療法の開発の可能性を示唆された。さらに、Th2 型反応と Tr1 型免疫反応は全く異なる反応であるが、しかし、IL-10 産生などで共通性もあり、Th2 型反応→Tr1 型免疫反応の誘導薬剤の開発はさらなる慢性大腸炎を含む自己免疫疾患治療への応用の可能性を示唆された。

E. 結論

Th1 型免疫反応を主体とする病態にも、Th2 型免疫反応の誘導可能な細胞集団が存在することが明らかとされた。ヒト炎症性腸疾患を含む慢性腸炎における特定の外来抗原（食物抗原、腸内細菌抗原）、自己抗原が明らかでない現状において、食物アレルギーなど有望な Th2 インデューサーを同定し、応用することはアレルギー疾患の治療のみならず、Th1 型優位な慢性大腸炎を含む自己免疫疾患の新規治療法の開発の可能性を示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kobayashi K, Hibi T, et al.: Detection of Fcγ binding protein antigen in human sera and its relation with autoimmune diseases. *Immunol Lett.* 79 (3): 229-235, 2001.
- 2) Asakura H, Hibi T, et al.: Efficacy of treatment with chimeric monoclonal antibody (Infliximab) to tumor necrosis factor-α for Crohn's disease in Japan: evaluation by rapid turnover proteins, and radiologic and endoscopic findings. *J Gastroenterol Hepatol.* 16 (7): 763-769, 2001.
- 3) Kanauchi O, Hibi T, et al.: Dietary fiber fraction of germinated barley foodstuff attenuated mucosal damage and diarrhea, and accelerated the repair of the colonic mucosa in an experimental colitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 16 (2): 160-168, 2001.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

執筆者氏名	題名	雑誌名(書名) 巻、頁、西暦年号
Ohkusa T, Watanabe M, et al.	Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients from whom <i>Helicobacter pylori</i> was eradicated.	Ann Int Med. 134: 380-386, 2001.
Inoue N, Watanabe M, et al.	Restricted VH gene usage in lamina propria B cells that produced anticolon antibody from patients with ulcerative colitis.	Gastroenterology. 121:15-23, 2001.
Sawada T, Watanabe M, et al.	Colon cancer cell adhesion to endothelial E-selectin inhibits detachment of endothelial cells through activation of beta(1)-integrin.	Biochem Biophys Res Commun. 286: 20-27, 2001.
Kanai T, Watanabe M, et al.	Macrophage-derived IL-18 mediated intestinal inflammation in the murine model of Crohns disease.	Gastroenterology. 121: 875-888, 2001.
Kawaguchi-Miyashita M, Shimada S, Kurusu H, Kato-Nagaoka N, Matsuoka Y, Ohwaki M, Ishikawa H and Nanno M	An accessory role of TCRgd+ cells in the exacerbation of inflammatory bowel disease in TCRa mutant mice.	European Journal of Immunology. 31 : 980-988, 2001.
Bannai M, Kawamura T, Naito T, Kameyama H, Abe T, Kawamura H, Tsukada C, Watanabe H, Hatakeyama K, Hamada H, Nishiyama Y, Ishikawa H, Takeda K, Okumura K, Taniguchi M and Abo T	Abundance of unconventional CD8+ natural killer T cells in the large intestine.	European Journal of Immunology. 31 : 3361-3369, 2001.
Hamada H, Hiroi T, Nishiyama Y, Takahashi H, Masunaga Y, Hachimura S, Kaminogawa S, Takahashi-Iwanaga H, Iwanaga T, Kiyono H, Yamamoto H and Ishikawa H	Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine.	The Journal of Immunology. 168 : 57-64, 2002.
Nishiyama Y, Hamada H, Nonaka S, Yamamoto H, Nanno M, Katayama Y, Takahashi H, and Ishikawa H	Homeostatic regulation of intestinal villous epithelia by B lymphocytes.	The Journal of Immunology. 168 : 2626-2633, 2002.
浜田裕公, 西山康裕, 石川博通	クリプトパッチ—腸管上皮細胞間T細胞(IEL)の腸管粘膜での発達分化—	医学のあゆみ 199 : 49-52, 2001.
石川博通, 西山康裕, 浜田裕公	腸管上皮内T細胞の発達分化とクリプトパッチ	免疫2002(臨時増刊号 Molecular Medicine) 38 : 136-141, 2001.
南野昌信, 石川博通	粘膜免疫とケモカイン	分子細胞治療(CELLULAR MOLECULAR MEDICINE) 2 : 584-589, 2001.
南野昌信, 石川博通	分子メカニズムからみた腸管免疫機構	BIO Clinica. 17 : 18-22, 2002.
石川博通	第一章 腸管上皮内リンパ球と腸管免疫	シリーズ21世紀の健康と医生物学 からだを守る(昭和堂) 1-2, 2001.
K Kataoka, S Shioda, K Yoshitomo-Nakagawa, H Handa and M Nishizawa	Maf and Jun nuclear oformation.	J Boil Chem. 276 : 36849-36856, 2001.
K Kataoka, H Handa and M Nishizawa	Induction of cellular anti-oxidative stress genes through heterodimeric transcription factor Nrf2/smallMafby anti-rheumatic gold (I) compounds.	J Boil Chem . 276 : 34074-34081, 2001.
Y Yamaguchi, J Filipovska, K Yano, A Furuya, N Inukai, T Narita, T Wada, S Sugimoto, M.M.Konarska and H Handa	Stimulation of RNA polymerase II elongation by Hepatitis delta antigen.	Science. 293 : 124-127, 2001.
Y Yamaguchi, T Narita, N Inukai, T Wada and H Handa	SPT Genes: Key players in the regulation of transcription, chromatin structure and other cellular processes. (review)	J Biochem. 129 : 185-191, 2001.
K-I.Ishizu, H Watanabe, S-I.Han, S-N.Kanesashi, M Hoque, H Yajima, K Kataoka and H Handa	The roles of disulfide linkage and calcium ion-mediated interactions in assembly and disassembly by virus-like particles composed of SV40 VP1 capsid protein.	J Virol. 75 : 61-72, 2001.
Kobayashi K, Hibi T, et al.	Detection of Fcgamma binding protein antigen in human sera and its relation with autoimmune diseases.	Immunol Lett. 79 (3) : 229-235, 2001.
Asakura H, Hibi T, et al.	Efficacy of treatment with chimeric monoclonal antibody (Infliximab) to tumor necrosis factor-alpha for Crohn's disease in Japa n: evaluation by rapid turnover proteins, and radiologic and endoscopic findings.	J Gastroenterol Hepatol. 16 (7) : 763-769, 2001.
Kanauchi O, Hibi T, et al.	Dietary fiber fraction of germinated barley foodstuff attenuated mucosal damage and diarrhea, and accelerated the repair of the colonic mucosa in an experimental colitis.	J Gastroenterol Hepatol. 16 (2) : 160-168, 2001.

研究成果の刊行物・別刷

20010808

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。