

問15. 朝、目覚めた時に疲労感が残っていることがどれくらいありますか？

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない

問16. 現在、ストレス(仕事、日常生活など全て含む)をどれくらい感じますか？

1. 非常に感じる
2. まあ感じる
3. あまり感じない
4. 全く感じない

問17. タバコはすいますか？

1. 吸わない
2. 過去に()本吸っていたが、()年前にやめた
3. 吸う ⇒ 1日の喫煙本数は平均()本・()年吸っている

*2の人は、何年前にやめ、それまで何本吸っていたかを○内に書き、3の人は、1日の平均喫煙本数を○内に書いて下さい。

問18. 酒類を飲みますか？

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない

問19. 生活習慣の改善（禁煙や、禁酒、減量する、運動するなど）を行ったことがありますか？

1. よく行ったことがある
2. 時々行ったことがある
3. 少し行ったことがある
4. 行ったことはない

問20. 機能性食品という言葉を知っていますか？

1. 今回知った
2. 知っていた
3. 知らない

問21. 特定保健食品という言葉を知っていますか？

1. 今回知った
2. 知っていた
3. 知らない

問22. 代替医療という言葉を知っていますか？

1. 今回知った
2. 知っていた
3. 知らない

問23. 過去6ヶ月（5月～10月）に漢方薬を飲みましたか？

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回以下
5. ほとんどない ⇒ 問24にお進み下さい。

→問23-1 具体的には何を飲んでいますか？分かる範囲でお答えください。

()

→問23-2 医療機関（医師）から処方されていますか？

1. はい
2. いいえ

→問23-3 どのような理由で漢方薬を飲んでいますか？（いくつでも可）

1. 体調不良（具体的に：) のため
2. 健康維持のため
3. 疲労回復のため
4. 肩こり・腰痛解消のため
5. 病気予防のため
6. 便秘解消のため
7. その他 ()

→問23-4 漢方薬を飲むことで、期待していた効果が得られましたか？

1. 非常に得られた
2. まあ得られた
3. あまり得られない
4. 全く得られない

→問23-5 漢方薬に1ヶ月どれくらいお金を使っていますか？だいたいでお答え下さい。

1. 1000円未満
2. 1,000～3,000円
3. 3,000～5,000円
4. 5,000～10,000円
5. 10,000円以上

問24. 過去6ヶ月(5月~10月)に**栄養補助剤・健康食品(ビタミン剤・カルシウム・銀杏エキス・魚エキスなどの錠剤やエキス・ドリンク剤など)**を取りましたか?

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1~2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない ⇒ 問25にお進み下さい

→問24-1 具体的には何を飲んでいますか?分かる範囲でお答え下さい。

()

→問24-2 医療機関(医師)から処方されていますか?

1. はい
2. いいえ

→問24-3 どのような理由で飲んでいますか?(いくつでも可)

1. 体調不良(具体的に:)のため
2. 健康維持のため
3. 疲労回復のため
4. 肩こり・腰痛解消のため
5. 病気予防のため
6. 便秘解消のため
7. その他()

→問24-4 栄養補助剤で、期待していた効果が得られましたか?

1. 非常に得られた
2. まあ得られた
3. あまり得られない
4. 全く得られない



→問24-5 漢方薬に1ヶ月どれぐらいお金を使っていますか?

1. 1000円未満
2. 1,000~3,000円
3. 3,000~5,000円
4. 5,000~10,000円
5. 10,000円以上

問25. 過去6ヶ月（5月～10月）に「整体」を用いたことがありますか？

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない ⇒ 問26にお進み下さい

→ 問25-1. 医療機関（医師）から勧められましたか？

1. はい
2. いいえ

→ 問25-2. この方法は、こういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい（いくつでも可）。

1. 体調不良（具体的に： ）のため
2. ストレス解消・いらいら解消のため
3. 疲労回復のため
4. 肩こり・腰痛解消のため
5. けがの回復のため
6. 便秘解消のため
7. その他（ ）

→ 問25-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

1. 非常に得られた
2. まあ得られた
3. あまり得られない
4. 全く得られない

→ 問25-4. この方法受けるために治療院などに行きましたか？

1. はい
2. いいえ ⇒ 問26にお進み下さい

→ 問25-5. 一回いくらかかりましたか？

約（ ）円

問 26. 過去6ヶ月（5月～10月）にあんま・マッサージを用いたことがありますか（自分で家で行ったものやマッサージ機なども含みます）？

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない ⇒ 問27にお進み下さい

→ 問26-1. 医療機関（医師）から勧められましたか？

1. はい
2. いいえ

→ 問 26-2.この方法は、どういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい（いくつでも可）。

1. 体調不良（具体的に： ）のため
2. ストレス解消・いらいら解消のため
3. 疲労回復のため
4. 肩こり・腰痛解消のため
5. けがの回復のため
6. 便秘解消のため
7. その他（ ）

→ 問26-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

1. 非常に得られた
2. まあ得られた
3. あまり得られない
4. 全く得られない

→ 問26-4.この方法を受けるために治療院やお店に行きましたか？

1. はい
2. いいえ ⇒問27にお進み下さい

→問26-5. 一回いくらかかりましたか？

約（ ）円

問 27. 過去6ヶ月（5月～10月）にイメージ療法又はヨガや瞑想を用いたことがありますか？（自分で家で行ったものも含まれます）

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない ⇒ 問28にお進み下さい

→問 27-1. 医療機関（医師）から勧められましたか？

1. はい
2. いいえ

→問 27-2.この方法は、こういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい（いくつでも可）。

1. 体調不良（具体的に： ）のため
2. ストレス解消・いらいら解消のため
3. 疲労回復のため
4. 肩こり・腰痛解消のため
5. けがの回復のため
6. 便秘解消のため
7. その他（ ）

→問 27-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

1. 非常に得られた
2. まあ得られた
3. あまり得られない
4. 全く得られない

→問 27-4.この方法受けるために治療院や教室などに行きましたか？

1. はい
2. いいえ ⇒問28にお進み下さい

→問 27-5. 一回いくらかかりましたか？

約（ ）円

問28. 過去6ヶ月（5月～10月）に鍼灸を用いたことがありますか？（自分で家で行ったものも含みます）

- 1. ほほ毎日
- 2. 週3回以上
- 3. 週1～2回
- 4. 月1回程度
- 5. ほとんどない ⇒ 問29にお進み下さい

→問28-1. 医療機関（医師）から勧められましたか？

- 1. はい 2. いいえ

→問28-2. この方法は、どういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい（いくつでも可）。

- 1. 体調不良（具体的に： ）のため
- 2. ストレス解消・いらいら解消のため
- 3. 疲労回復のため 4. 肩こり・腰痛解消のため
- 5. けがの回復のため 6. 便秘解消のため
- 7. その他（ ）

→問28-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

- 1. 非常に得られた
- 2. まあ得られた
- 3. あまり得られない
- 4. 全く得られない

→問28-4. この方法受けるために治療院などに行きましたか？

- 1. はい 2. いいえ ⇒問29にお進み下さい

→問28-5. 一回いくらかかりましたか？

約（ ）円

問 29. 過去6ヶ月（5月～10月）に「気功・太極拳など」を行ったことがありますか？（自分で家で行ったものも含みます）

1. ほぼ毎日
2. 週3回以上
3. 週1～2回
4. 月1回程度
5. ほとんどない ⇒ 問30にお進み下さい

→問 29-1. 医療機関（医師）から勧められましたか？

1. はい
2. いいえ

→問 29-2. この方法は、こういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい（いくつでも可）。

1. 体調不良（具体的に： _____ ）のため
2. ストレス解消・いらいら解消のため
3. 疲労回復のため
4. 肩こり・腰痛解消のため
5. けがの回復のため
6. 便秘解消のため
7. その他（ _____ ）

→ 問 29-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

1. 非常に得られた
2. まあ得られた
3. あまり得られない
4. 全く得られない

→ 問 29-4. この方法受けるために治療院などに行きましたか？

1. はい
2. いいえ ⇒問30にお進み下さい

→ 問 29-5. 一回いくらかかりましたか？

約（ _____ ）円

問30. 過去6ヶ月（5月～10月）にアロマセラピーもしくはハーブ（漢方薬を除く）を用いたことがありますか？（自分で家で行ったものも含みます）

- 1. ほぼ毎日
- 2. 週3回以上
- 3. 週1～2回
- 4. 月1回程度
- 5. ほとんどない ⇒ 問31にお進み下さい

→ 問30-1. 医療機関（医師）から勧められましたか？

- 1. はい
- 2. いいえ

→ 問30-2. この方法は、こういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい（いくつでも可）。

- 1. 体調不良（具体的に： ）のため
 - 2. ストレス解消・いらいら解消のため
 - 3. 疲労回復のため
 - 4. 肩こり・腰痛解消のため
 - 5. けがの回復のため
 - 6. 便秘解消のため
 - 7. その他（ ）

→ 問30-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

- 1. 非常に得られた
- 2. まあ得られた
- 3. あまり得られない
- 4. 全く得られない

→ 問30-4. この方法受けるために治療院などに行きましたか？

- 1. はい
- 2. いいえ ⇒ 問31にお進み下さい

→ 問30-5. 一回いくらかかりましたか？

約（ ）円

問31. 過去6ヶ月(5月~10月)に温泉に入ったことがありますか？

- ほぼ毎日
- 週3回以上
- 週1~2回
- 月1回程度

ほとんどない ⇒問32にお進み下さい

→ 問31-1. 医療機関(医師)から勧められましたか？

- 1. はい
- 2. いいえ

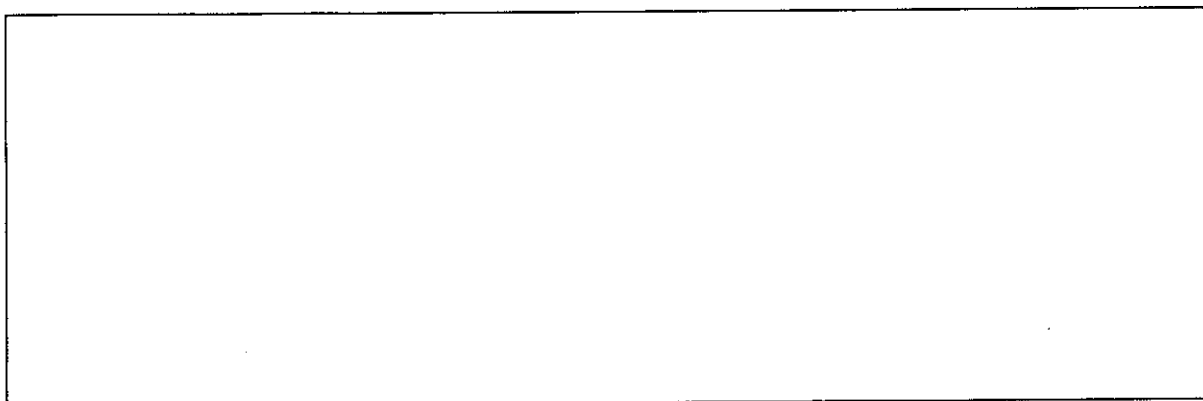
→ 問31-2. この方法は、どういった目的で用いましたか？次の中から選んで下さい(いくつでも可)。

- 1. 体調不良(具体的に:)のため
- 2. ストレス解消・いらいら解消のため
- 3. 疲労回復のため
- 4. 肩こり・腰痛解消のため
- 5. けがの回復のため
- 6. 便秘解消のため
- 7. その他()

→ 問31-3. この方法で、期待していた効果が得られましたか？

- 1. 非常に得られた
- 2. まあ得られた
- 3. あまり得られない
- 4. 全く得られない

何か、ご自分で、健康維持や、病気の予防のために行っていることがありましたら、
お書きください。



以上です。記入もれがないか、ご確認ください。
ご協力ありがとうございました。

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
リウマチアレルギー疾患の早期診断に関する研究

アレルギー疾患予防効果試験研究のためのフィールド作成

主任研究者 白川太郎

京都大学大学院医学研究科社会健康医学専攻健康要因学講座健康増進・行動学教授

研究要旨

アレルギーの発症を予測するマーカーの内、血清学的なマーカーとして腸内細菌に対する抗体を測定するために、正常児童とアレルギー児童の集団調査を実施する計画を策定した。また、最終的に便及び血清学的なマーカーを用いた大規模集団調査を実施するために、いくつかの市町村における大規模調査の準備を行なった

A.研究目的

1) アレルギー疾患発症は、抗生物質の投与などにより、本来消化管にしかない細菌に対する抗体産生がおこり、外に放出されていることにより、Th2 が刺激されアレルギー発症につながるものが1つのメカニズムと考えられる。昨年度は、12-13歳の子どもを対象に検討を行ったが、複数のアレルギー疾患発症とのみしか関係がなかったため、低年齢児童での検討が必要と考え、幼稚園児でのアレルギー症状と腸内細菌叢の関連の検討を開始した。

2) ある種のプロバイオティクス投与により、アレルギー疾患が予防できるという報告がなされているが、実際に日本人においてアレルギー予防効果があるか否かを検討することを目的に、試験コホート作りを開始した。

B.研究方法

1) 対象者は、国立療養所南福岡病院の小児科受診の男女(3歳~5歳)であり、主に、喘息とアトピー性皮膚炎の児童を対象に血液サンプルと保護者を対象にした質問紙を実施している。質問紙の内容は、環境要因、アレルギー症状の家族歴、などであった。血清の測定項目は、IgE抗体価、抗腸内細菌(*Escherichia coli*, *Bacteroides vulgatus*, *Enterococcus faecalis*, *Bifidobacterium longum*, *Staphylococcal enterotoxin A*) IgG抗体価、生物・食品・真菌などのIgE抗体

価である。

2) ①人口の入れ替わりが少ない地域であること(追跡調査が可能であること)、②健康への取り組みが熱心であること、③大気汚染その他の、他の発症要因が少ない地域であること、④年間の新生児誕生がある程度見込める地域であること、などの条件を満たす地区として、熊本県小国町を選定した。

C.研究結果

1) 160名(アトピー性皮膚炎80名、喘息80名)を目標にサンプルを収集する。現在、84名分の血液中IgE抗体価、特異的IgE抗体価の測定が終了している。平均IgE値は、1353IU/mlであった。ダニに対する100UA/ml以上のIgE抗体価をもつ児童は、51名で全体の60%以上にのぼった。

2) 今年度7月下旬より、プロバイオティクスを製造している3企業をオブザーバーに迎え小国町を中心とした研究会を立ち上げた。研究会委員には、町の代表者を迎え、試験内容の理解を深めるとともに、アンケート調査などを中心にして町民に啓蒙活動を行った。第四回研究会では、オブザーバーによる、プロバイオティクスのアレルギー予防効果試験の提案が行われ、次年度以降の試験準備を整えた。

D.考察

アレルギー疾患予防は、生後早いうちに行

うことが望ましい。アレルギー疾患発症予防には、早期の診断方法、予防方法の確立が不可欠である。特に、乳幼児では、出来るだけ侵襲性の低い簡便な方法が望ましい。また予防方法は、安全性・信頼性の高いものである必要がある。どの時期の腸内細菌叢の構成が、アレルギー性疾患発症と関わるのかを明らかにする一方で、日本人の腸内環境を整えることの出来るプロバイオティクスを決定する必要がある。こういった取り組みは、今後の全ての疾患の予防アプローチに必要であり、我々の成果は、モデルケースになることが期待される。

E. 結論

最終年度に向けた大規模追跡調査を行うためのフィールド調査を行うための集団を確保した。また倫理委員会への承認を行なった。15年度に向けての準備が整ったと考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(論文発表)

1. 論文発表

1) Kiyahara C, Otsu A, Shirakawa T, Fukuda S, Hopkin JM. Genetic polymorphisms and lung cancer susceptibility: a review. Lung Cancer. 2002;37:241-256.

2) Bottono N, Mao XQ, Borgiani P, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Shirakawa T, Hopkin JM. Low molecular weight PTP-IL-4RA interaction in atopy predisposition. Allergy. 2002;75:Suppl72:10-12.

3) Arima K, Umeshita-Suyama R, Sakata Y, Akaiwa M, Mao XQ, Enomoto T, Dake Y, Shimazu S, Yamashita T, Sugawara N, Brodeur S, Geha R, Puri RK, Sayegh MH, Adra CN, Hamasaki N, Hopkin JM, Shitakawa

T, Izuhara K. Upregulation of IL-13 concentration in vivo by the IL13 variant associated with bronchial asthma. J Allergy Clin Immunol. 2002;109:980-987.

4) Bottini N, Borgiani P, Otsu A, Saccucci P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Hopkin J, Mao XQ, Shirakawa T. IL-4 receptor alpha chain genetic polymorphism and total IgE levels in the English population: two-locus haplotypes are more informative than individual SNPs. Clin Genet. 2002;61:288-292.

5) Donato JL, Ko J, Kutok JL, Cheng T, Shirakawa T, Mao XQ, Beach D, Scadden DT, Sayegh MH, Adra CN. Human HTm4 is a hematopoietic cell cycle regulator. J Clin Invest. 2002;109:51-8.

6) Tanaka K, Roberts MH, Yamamoto N, Sugiura H, Uefara M, Mao XQ, Shirakawa T, Hopkin JM. Genetic variants of the receptors for thromboxane A2 and IL-4 in atopic dermatitis. Biochem Biophys Res Commun. 2002;292:776-80.

2. 学会発表

1) 白川太郎：アレルギー疾患の遺伝学的研究。(特別講演),第14回日本アレルギー学会春季臨床大会,2002.3.21-23,千葉幕張メッセ

2) 荒川浩一,鈴木道子,戸所誠,加藤政彦,望月博之,徳山研一,森川昭広,白川太郎,出原賢治：細胞内シグナル伝達物質 STAT6 遺伝子の exon1 における GT 繰り返し配列の多型と気管支喘息との関連,第14回日本アレルギー学会春季臨床大会,2002.3.21-23,千葉幕張メッセ

3) 幸野健,青木敏之,上田伸男,植田美津江,

高岡正敏,程雷,白川太郎,三好彰：チベット自治区におけるアトピー性皮膚炎調査報告, 第14回日本アレルギー学会春季臨床大会,2002.3.21-23,千葉幕張メッセ

4) 嶋田貴志,程雷,河合康雄,三好彰,榎本雅夫,白川太郎：乳酸菌 FK-3 菌抽出物 (LFK) の通年性アレルギー性鼻炎に対する効果, 第14回日本アレルギー学会春季臨床大会,2002.3.21-23,千葉幕張メッセ

5) 玉利真由美,長谷川耕一,白川太郎：機関紙関連遺伝子へのアプローチ, (シンポジウム)
第39回日本小児アレルギー学会,2002.11.2-3,岩手県民会館

6) 鈴木洋一,邵晨深,鎌田文顕,松原洋一,田村弦,玉利真由美,長谷川耕一,白川太郎：多遺伝子間の関連をどのように明らかにするか (シンポジウム), 第39回日本小児アレルギー学会,2002.11.2-3,岩手県民会館

7) 鎌田文顕, 邵晨深,玉利真由美,長谷川耕一,遠藤宏子,高柳玲子,中澤千冬,森川利夫,森川みき,宮林重明,千葉靖,斎藤誠一,田村弦,白川太郎,鈴木洋一,松原洋一：hCLCA1 遺伝子多型と小児気管支喘息との相関, 第39回日本小児アレルギー学会,2002.11.2-3,岩手県民会館

H.特許

特になし

厚生労働科学研究費補助金「リウマチアレルギー疾患の早期診断に関する研究」
分担研究報告書

アレルギーと粘膜免疫の関連と早期診断へ向けた動物モデルを使った理論形成

分担研究者： 清野 宏 東京大学医科学研究所 教授

研究要旨： 本研究では、アレルギー疾患の発症と深く関連すると考えられている粘膜免疫システムの関与について解明する。特に各種粘膜免疫担当組織の関与を個体レベルで検討した。我々は昨年、炎症性サイトカインとそのレセプターが粘膜免疫関連組織の構築に不可欠であることを報告した。そこで本年度は、炎症性サイトカインの出世後における腸管粘膜関連免疫担当組織への影響について分子・細胞レベルでの解析を行った。正常マウスにおいて LT α R を介したシグナルを阻止すると、腸管孤立リンパ小節が消失した。さらにパイエル板の縮小、腸間膜リンパ節の構造の一部が壊れていた。また、腸管において経口投与した抗原に対する抗原特異的 IgA 抗体応答の顕著な抑制が認められた。したがって、出生後の LT α R を介したシグナルは孤立リンパ小節の形成およびパイエル板、腸間膜リンパ節の組織構造維持に重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに腸管の IgA 抗体応答における三種腸管粘膜関連免疫担当組織間のクロストークシステムが示唆された。

共同研究者：山本 正文 大阪大学微生物病研究所 非常勤講師

A. 研究目的

アレルギー疾患の発症機序を明らかにする上で、アレルゲンを直接取り込む消化管粘膜免疫システムの発達・組織維持機構ならびに同組織を介したアレルギー抗原特異的免疫応答の誘導・制御メカニズムを解明することは非常に重要である。我々は前年度の報告で、マウスの胎生期に LT α R を介するシグナルを阻止することによりパイエル板欠損マウスを作製し、腸管におけるパイエル板独立型 IgA 産生経路の存在を示した。そこで本研究では炎症性サイトカインが出生後の腸管粘膜関連免疫担当組織の構築および構造の維持、さらに腸管の抗原特異的 IgA 抗体応答に与える影響について解

析した。

B. 研究方法

6週齢の正常マウスに TNFR-Ig あるいは LT α R-Ig 複合タンパクを投与することにより各々の炎症性サイトカインシグナル伝達経路をブロックして、出生後の孤立リンパ小節、パイエル板、腸間膜リンパ節の形成および組織構造維持への影響を解析した。さらにこれらの複合タンパク処理マウスにおける経口免疫抗原に対する腸管粘膜での抗原特異的免疫応答を検討した。

C. 研究結果

正常マウスに LT α R-Ig 複合タンパクを投

与することにより孤立リンパ小節が消失した。また、パイエル板数の減少および縮小が認められた。腸間膜リンパ節は数、大きさともに正常であったが、T細胞とB細胞領域の境界が不明瞭となり、樹上細胞領域(FDC)の顕著な縮小が認められた。さらにこれらのマウスの腸管における抗原特異的IgA抗体応答を解析した結果、顕著な抑制が認められた。

D. 研究考察

腸管粘膜関連担当組織には胎生期に形成されるもの(パイエル板と腸間膜リンパ節)と出生後に形成されるもの(孤立リンパ小節)が存在することが示された。さらに炎症性サイトカインが胎生期および出生後の両方で、これらの腸管粘膜免疫担当組織の構築および組織構造維持に深く関わっていることが明らかにされた。また、孤立リンパ小節、パイエル板、腸間膜リンパ節間にクロストークが存在し、経口投与された抗原に対する抗原特異的IgA抗体応答に際してこれらの組織が統合的なネットワークシステムを形成していることが示唆された。今後、この粘膜免疫関連組織統合ネットワークシステムによるアレルゲン特異的IgE、IgA免疫応答について解析を進めていく必要がある。

E. 結論

腸管に存在するパイエル板・孤立リンパ小節・腸管膜リンパ節が三者間相互依存的にIgA抗体応答を統率・制御している。

F. 健康危険情報

当研究計画は医学的情報発信へ向けた基

礎的理論形成研究の為、現時点では該当しない。

G. 研究発表

- 1 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. 2002. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine. *J. Immunol.* 168: 57-64.
- 2 Kweon, M-N., Takahashi, I., Yamamoto, M., Jang, M-H., Suenobu, N. and Kiyono, H. 2002. Development of antigen-induced enterocolitis in SCID mice reconstituted with spleen-derived memory type CD4⁺ CD45RB⁺ T cells. *Gut* 50: 299-306.
- 3 Takahashi, I., Matsuda, J., Gapin, L., DeWinter, H., Kai, Y., Tamagawa, H., Kronenberg, M. and Kiyono, H. 2002. Colitis-related public T cells are selected in the colonic lamina propria of IL-10 deficient mice. *Clin. Immunol.* 102 (3): 237-248.
- 4 Kunisawa, J., Takahashi, I., Okudaira, A., Tsutsumi, Y., Katayama, K., Hiroi, T., Nakagawa, S., Kiyono, H. and Mayumi, T. 2002. Lack of

- antigen-specific immune responses in anti-IL-7 α antibody-treated Peyer's patch-null mice following intestinal immunization with microencapsulated antigen. *Eur. J. Immunol.* 32: 2347-2355.
5. Ueta, M., Kweon, M-N., Sano, Y., Sotozono, C., Yamada, J., Koizumi, N., **Kiyono, H.** and Kinoshita, S. 2002. Immunosuppressive properties of human amniotic membrane for mixed lymphocyte reaction. *Clin. Exp. Immunol.* 129: 464-470.
 6. Ohta, N., Hiroi, T., Kweon, M-N., Kinoshita, N., Jang, M-H., Miyazaki, J. and **Kiyono, H.** 2002. IL-15 induced CD8 $\alpha\beta$ ⁺ NK1.1⁺T cells in the development of small intestinal inflammation in T3b-IL-15 Tg mice. *J. Immunol.* 169: 460-468.
 7. Suenobu, N., Kweon, M-N. and **Kiyono, H.** 2002. Nasal vaccination induces the ability to eliminate *Candida* colonization without influencing the pre-existing antigen-specific IgE Abs: a possibility for the control of *Candida*-related atopic dermatitis. *Vaccine* 20: 2972-2980.
 8. Fukuyama, S., Hiroi, T., Yokota, Y., Rennert, P.D., Yanagita, M., Kinoshita, N., Terawaki, S., Shikina, T., Yamamoto, M., Kurono, Y. and **Kiyono, H.** 2002. NALT organogenesis is independent of the IL-7R, LT $\alpha\beta$ 2/LT β R and NIK signaling pathways but does require the Id2 gene and CD3⁻ CD4⁺CD45⁺ cells. *Immunity* 17: 31-40.
 9. Watanabe, I., Hagiwara, Y., Kadowaki, S., Yoshikawa, T., Komase, K., Aizawa, C., **Kiyono, H.**, Takeda, Y., McGhee, J.R., Chiba, J., Sata, T., Kurata, T. and Tammura, S. 2002. Characterization of protective immune responses induced by nasal influenza vaccine containing mutant cholera toxin as a safe adjuvant (CT112K). *Vaccine* 20: 3443-3455
 10. Yanagita, M., Shimabukuro, Y., Nozaki, T., Yoshimura, N., Watanabe, J., Koide, H., Terakura, M., Saho, T., Takedachi, M., Jang, M-H., **Kiyono, H.** and Murakami, S. 2002. IL-15 up-regulates iNOS expression and NO production by gingival epithelial cells. *Biochem. Biophysical. Res. Commun.* 297: 329-334.
 11. Kweon, M-N., Yamamoto, M., Watanabe, F., Tamura, S., F.W. van Ginkel., Miyauchi, A., Takagi, H., Takeda, Y., Hamabata, T., Fujihashi, K., J.R. McGhee. and **Kiyono, H.** 2002. A non-toxic chimeric enterotoxin adjuvant induces protective immunity

- in both mucosal and systemic compartments with reduced IgE Ab. *J. Infect. Dis.* 186: 1261-1269.
12. Kinoshita, N., Hiroi, T., Ohta, N., Fukuyama, S., E. J. Park. and Kiyono, H. 2002. Autocrine IL-15 mediates intestinal epithelial cell death via the activation of neighboring intraepithelial NK cells. *J. Immunol.* 169: 6187-6192.
 13. Sakaue, G., Hiroi, T., Nakagawa, Y., Someya, K., Iwatani, K., Sawa, Y., Takahashi, H., Honda, M., Kunisawa, J. and Kiyono, H. 2002. HIV mucosal vaccine: nasal immunization with gp160 encapsulated HVJ-liposome induces antigen-specific CTL and neutralizing antibody responses. *J. Immunol.* 170: 495-502.
 14. Kweon, M-N. and Kiyono, H. 2002. CD40L in autoimmunity and mucosally induced tolerance. *J. Clin. Invest.* 109 : 171-173.
 15. Kawahara, M., Matsuo, K., Nakasone, T., Hiroi, T., Kiyono, H., Matsumoto, S., Yamada, T., Yamamoto, N. and Honda, M. 2002. Combined intrarectal/intradermal inoculation of recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG) induces enhanced immune responses against the inserted HIV-1 V3 antigen. *Vaccine* 21: 158-66.
 16. Okuda, Y., Takahashi, I., Kim, J-K., Ohta, N., Iwatani, K., Kai, Y., Tamagawa, H., Hiroi, T., Kweon, M-N., Kawano, S., Sasaki, Y., Hori, M., Takeda, K., Akira, S. and Kiyono, H. 2003. Development of colitis in STAT6-deficient TCR $\alpha^{-/-}$ mice : A potential of STAT6-independent IL-4 signaling for the generation of Th2-biased pathologic CD4 $^{+}$ $\beta\beta$ T cells. *Am. J. Pathol.* 162: 263-271.
 17. Boyaka, P.N., Ohmura, M., Fujihashi, K., Koga, T., Yamamoto, M., Kweon, M-N., Takeda, Y., Jackson, R.J., Kiyono, H., Yuki, Y. and McGhee, J.R. 2003. Chimeras of labile toxin one and cholera toxin retain mucosal adjuvanticity and direct Th cell subsets via their B subunit. *J. Immunol.* 170: 454-462.
 18. Hagiwara, Y., McGhee, J.R., Fujihashi, K., Kobayashi, R., Yoshino, N., Kataoka, K., Etani, Y., Kweon, M-N., Tamura, S., Kurata, T., Takeda, Y., Kiyono, H. and Fujihashi, K. 2003. Protective mucosal immunity in aging is associated with functional CD4 $^{+}$ T cells in nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissue. *J. Immunol* 15: 1754-1762.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし。

分担研究報告書

消化管上皮細胞に対する IL-4, IL-13 の機能的影響に関する検討

分担研究者 出原賢治 佐賀医科大学医学部分子生命科学講座教授

研究要旨 インターロイキン4 (IL-4), IL-13 は気管支喘息, アトピー性皮膚炎などのみならず, 食物アレルギーにも関与していると考えられている. 本研究においては, 食物アレルギーの病変部位において産生された IL-4, IL-13 が消化管上皮細胞に作用して病態形成を引き起こしている機序について解析を行うことを目的としている. 昨年度の本研究において, 消化管上皮組織中の小窩細胞, 腺細胞において IL-4 レセプター α 鎖と IL-13 レセプター α 1 鎖の両方の発現を認めることを報告した. 本年度は IL-4, IL-13 による消化管上皮細胞における誘導遺伝子を同定するために, まず気管支上皮細胞における同サイトカインによる誘導あるいは抑制遺伝子の同定を試みた. その結果, ヒト初代気管支上皮細胞を用いて同定した IL-13 による 14 個の誘導あるいは 10 個の抑制遺伝子のうち, 卵白誘発喘息モデルマウスの肺組織においては 4 個の誘導遺伝子の発現の増強と 3 個の抑制遺伝子の発現の減少を認めた. 4 個の誘導遺伝子はアラキドン酸代謝酵素である 15-lipoxygenase, メタルプロテアーゼである ADAM8 と 2 個の機能不明な遺伝子であった. 3 個の抑制遺伝子はインスリン様成長因子結合タンパク質 6 と 2 個の機能不明な遺伝子であった. 現在アレルギー性腸炎モデルマウスの消化管組織におけるこれらの遺伝子発現に関する解析を行っている. 今後これらの遺伝子とアレルギー性腸炎との関連を解析することにより, 食物アレルギーの発症機序に関する理解が広がるものと期待される.

A. 研究目的

気管支喘息やアレルギー性鼻炎では Th2 サイトカインである IL-4, IL-13 が重要な役割を持っていることが知られている. 食物アレルギーにおいても患者血清中における IL-4 の増加や, アレルゲン特異的 T 細胞からの IL-4, IL-13 産生増強といった気管支喘息やアレルギー性鼻炎との共通性が報告されている. 当研究班の分担研究者である清野らは, 経口卵白アルブミン投与によるアレルギー性腸炎モデルマウスを作製し, IL-4, IL-13 の重要性を示している. これらのことより, IL-4, IL-13 は気管支上皮細胞あるいは消化管上皮細胞に作用して, 何らかの共通したアレルギー疾患の病態形成を引き起こしている可能性が考えられる. 我々は昨年度の本研究において消化管上皮組織中の小窩細胞, 腺細胞において IL-4 レセプター α 鎖と IL-13 レセプター α 1 鎖の両方の発現を認めたことを報告した. そこで, まず気管支上皮細胞における IL-4, IL-13 による誘導あるいは抑制遺伝子を同定した後, それらの遺伝子とアレルギー性腸炎との関連性を解析することを目指した.

B. 研究方法

生理的な状況下での気管支上皮細胞における IL-4, IL-13 による誘導あるいは抑制遺伝子を同定するために,

air-interface 法 (空気接触法) にてヒト初代気管支上皮細胞を IL-4, IL-13 存在下で培養し, mRNA を採取して Affymetrix 社の HG-U95 シリーズの DNA チップにて解析を行い, 非存在下での培養条件と比較した. 発現変動が強く認められた遺伝子について, Real-Time PCR 法にて mRNA 量の変動を定量化した. さらに, ヒト初代気管支上皮細胞において同定した発現変動遺伝子のマウス遺伝子が, 卵白誘発喘息モデルマウスの肺組織において発現が変動しているかを Real-Time PCR 法にて mRNA 量を定量化することにより解析した.

C. 研究結果

ヒト初代気管支上皮細胞を用いて同定した 24 個のマウス遺伝子 (14 個の誘導遺伝子と 10 個の抑制遺伝子) のうち, 卵白誘発喘息モデルマウスの肺組織においては 4 個の誘導遺伝子の発現の増強と, 3 個の抑制遺伝子の発現の減少が喘息誘発群において認められた. 4 個の誘導遺伝子のうち, 2 個の遺伝子については機能が不明であったが, 残りはアラキドン酸代謝酵素である 15-lipoxygenase とメタルプロテアーゼである ADAM8 であった. 3 個の抑制遺伝子のうち, 2 個の遺伝子については機能が不明であったが, 残りはインスリン様成長因子結合タンパク質 6 であった. 現在これらの遺伝子発現に