

200400700A

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

免疫アレルギー疾患に係わる
胎内・胎外因子の同定に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 森川 昭廣

平成17(2005)年3月

厚生労働省

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

免疫アレルギー疾患に係わる
胎内・胎外因子の同定に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 森川 昭廣

平成17(2005)年3月

厚生労働省

目 次

I. 総括研究報告書

アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

主任研究者

群馬大学医学部小児生体防御学教授 森川 昭廣 …………… 1

II. 分担研究報告書

- 1) 乳児期におけるアレルギー性疾患の予知
胎因子、新生児期皮膚バリア機能、臍帯血サイトカインによる
乳児期のアレルギー性疾患についての前方視的検討
分担研究者
群馬大学医学部小児生体防御学教授 森川 昭廣…………… 5
- 2) ウイルス感染がアレルギー発症に及ぼす影響
分担研究者
岐阜大学医学部小児病態学教授 近藤 直実 …………… 10
- 3) ヒト気道上皮細胞活性化、細胞死に關与する菌体成分の同定
分担研究者
帝京大学医学部内科教授 大田 健 …………… 13
- 4) 気管支喘息の胎外因子としてのウイルス感染、胎内因子としての遺伝子多型
分担研究者
昭和大学第一内科教授 足立 満 …………… 18
- 5) 自然免疫による病原体の認識機構とアレルギー疾患の発症に関する研究
分担研究者
千葉大学医学部小児病態学教授 河野 陽一 …………… 23
- 6) アレルギー疾患の発症に関する疫学的検討
分担研究者
国立病院機構 南福岡病院診療部長 小田嶋 博 …………… 28
- 7) アレルギー気道炎症・リモデリング形成に果たす胎内胎外因子の役割
分担研究者
群馬大学医学部小児生体防御学助教授 徳山 研一 …………… 31
- 8) ヒト気道上皮細胞におけるRSV感染による遺伝子発現解析
—気道リモデリング関連分子の検討—
獨協医科大学小児科助教授 吉原 重美 …………… 35
- 9) 正常ヒト肺線維芽細胞におけるEotaxin発現に対する
デキサメサゾンの影響とその分子メカニズムの検討
分担研究者
群馬大学医学部小児生体防御学講師 荒川 浩一 …………… 38
- 10) 周産期に起因する呼吸障害と乳児喘息
分担研究者
自治医科大学小児科 助教授 本間 洋子…………… 42

III. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 47

IV. 研究成果の刊行物・別冊…………… 48

平成16年度 厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患など予防・治療研究事業
アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

主任研究者 森川昭廣 群馬大学大学院小児生体防御学教授

研究要旨：

アレルギー疾患は、遺伝的要因と環境的要因（胎内・胎外因子）が複雑に絡み合っただけで発症していくと考えられている。近年、日本を含む世界各国においてアレルギー疾患患者の増加が報告され、胎内・胎外因子、および遺伝的要因との係わりが変化してきたことが考えられる。本研究は、アレルギー疾患（特に、気管支喘息）に係わる胎内・胎外因子の同定、特に感染因子を中心とした研究を行い、喘息の発症および増悪の阻止について寄与することを目的とする。本年度は以下の結果を得た。

1) 胎内因子

胎内因子として、アレルギー疾患、特に乳児期の反復性喘鳴や気管支喘息と妊娠中の感染との関連を疫学的に検討した。母体感染と乳児期の反復性喘鳴との関連は明らかではなかったが、喘息の家族歴を考慮すると関連性が存在した。母体 ureaplasma 感染は、新生児慢性肺疾患、さらに乳児期の反復性喘鳴と関連がみられた。臍帯血サイトカインの検討では、IL-10 と乳児期の反復性喘鳴との関連が示唆され、児の免疫系に影響を与えるいくつかの因子が喘鳴発症に関わることが示唆された。遺伝的要因として、RS ウイルス感染による喘鳴や感染後の喘鳴発症に CD14、IFN- γ 、IL-13 の遺伝子多型が関連している可能性が示唆された。

2) 胎外因子

RS ウイルス感染における免疫応答やアラキドン酸代謝を検討し、喘鳴を呈した児では Th1 系の反応が低下し、アラキドン酸代謝産物が上昇していることを明らかにした。In vitro でのウイルス感染モデルでは、気道上皮からサイトカインやケモカインの産生ばかりでなく、自然免疫受容体や接着分子、さらには、成長因子や MMP 遺伝子群の発現が増強することを明らかにした。また、気道上皮と好酸球では受容体を介した応答に相違があることが明らかになった。肺線維芽細胞の活性化において、dual action を呈し、気道炎症を修飾する可能性を示した。気道アレルギー性炎症の進展・修復機序に個体の成熟度により修飾をうけることが示唆された。

本研究では、アレルギー疾患である気管支喘息の発症増悪要因を、環境因子である感染に焦点をあて胎内、胎外因子の視点から解析した。今後、明らかにされた因子を、更に詳しく検討して行くことにより、これらの因子に対して介入（除去・予防）した場合の効果を検討することも重要な課題である。

研究分担者

足立 満 (昭和大学医学部第一内科教授)
荒川浩一 (群馬大学大学院小児生体防御学講師)
大田 健 (帝京大学医学部内科教授)
小田嶋博 (国立療養所南福岡病院 診療部長)
河野陽一 (千葉大学医学部小児科教授)
近藤直実 (岐阜大学医学部小児病態学教授)
本間洋子 (自治医大小児科助教授)
徳山研一 (群馬大学大学院小児生体防御学助教授)
吉原重美 (獨協医科大学小児科助教授)
(アイウエオ順)

討は、倫理的側面から研究を行ううえでの制約が多いために、本研究では、遺伝的要因を含めて広義の意味で胎内因子を検討した。

本研究では、気管支喘息の発症と増悪に関して、それぞれに係わる胎内・胎外因子の同定を目指して研究を遂行している。発症要因として、特に、胎内および周生期、さらには生後数年以内に罹患する感染が気管支喘息の発症に重要な役割を果たしていると考えられている。胎内因子としては、胎内感染とアレルギー疾患発症との関連および胎内環境の指標として臍帯血中のサイトカイン・ケモカインの測定を行い、さらに、生体側の感受性である遺伝・免疫学的な要因と気道の未熟性などから検討した。胎外因子として RS 感染と toll 様受容体から検討を行っている。一方、増悪要因としては、胎内因子としてウイルス感受性遺伝子や炎症に関連した遺伝子、胎外因子として気道組織とウイルスとの相互作用などの点から検討を加えている。

A. 研究目的

本研究は、アレルギー疾患（気管支喘息）に係わる胎内・胎外因子の同定、特に感染因子を中心とした研究を行い、喘息の発症および増悪の阻止について寄与することを目的とする。

胎内因子とは、胎内環境で曝露される様々な因子で、一方、胎外因子は、出生後に曝露される環境要因と考えられる。しかしながら、胎内因子の検

これらの検討は、気管支喘息の一次予防、二次予防にむけて非常に重要であり、本研究の目的の主眼とした。

B. 研究の方法およびC. 結果

1) アレルギー疾患発症における胎内感染の影響
本研究において、胎内における感染(母親の感染)がその後のアレルギー疾患に影響を及ぼすかを検討する目的で、2つのプロジェクトが行われた。

森川らは、

1) 乳児アトピー性皮膚炎発症と母体感染症の既往、在胎週数との関連に注目し、開業産科婦人科一施設で出生した健康新生児 262 名の前方視的検討を行った。

2) 在胎期間中の母体感染症の有無としては、ウイルス感染症として上気道炎や胃腸炎、細菌感染症としてクラミジアやB群溶連菌による子宮付属器感染症にて検討を行った。その結果、ウイルス感染症の有無、子宮付属器感染症の有無と、その後の乳児アトピー性皮膚炎発症の関連性は認めなかった。現在、調査続行中である。

3) また、アトピー性皮膚炎発症に関わる非アレルギー的側面である皮膚の機能的障害がいつ起こるかを明らかにするために、周生期ならびに1カ月健診で皮膚機能検査を施行し、その後のアトピー性皮膚炎発症との関連を検討した。その結果、周生期の皮膚機能とは関連が認められず、1カ月健診で機能的な変化が観察された。

本間らは、

1) 慢性肺疾患 (CLD) と Ureaplasma 保菌の関連性を検討した。CLD を感染型と非感染型に分類し解析した結果、感染型 CLD は、非感染型 CLD に比べて、胎盤の ureaplasma 保菌、出生時の白血球数と有意に関連していた。感染型 CLD では、白血球は非感染型に比べて有意に多いが、ureaplasma 保菌陰性例でも高値であり、おのおのが独立して感染型 CLD 発症に関連している可能性がある。

2) CLD の型別による酸素投与日数、人工呼吸 (MV) 日数との関連である。3 型が酸素投与日数、MV 日数ともに長い。症例数が少なく、また、各症例の変動が大きく有意差はなかった。胎盤保菌の有無、新生児保菌の有無に関しても、酸素投与日数、MV 日数ともに差は見られなかった。

3) NICU 退院後 2 回以上喘鳴のエピソードあるいは気管支喘息と診断された例を BA 群として周産期因子との関連性を検討した。BA 群は酸素投与期間が有意に長く、新生児保菌例が多かった。

このように、胎内感染とアレルギー疾患発症に関しては、菌種により関与に相違がみられる可能性が示唆された。

2) 出生後のアレルギー疾患発症にかかわる感染の影響

ウイルス感染により喘鳴をきたしやすい素因や環境因子、遺伝 (遺伝子レベル) との関連を解明するため、

小田嶋らは、

1) 平成 12 年 11 月～平成 16 年 11 月に、2 歳以下で気道症状を認め入院した 613 名を対象として、RS ウイルス抗原検索を行ったのは 600 名である。そのうち RS 抗原陽性であった 113 名を対象として、背景因子と予後調査をおこなった。

2) 退院後に、反復性喘鳴を来した者は 42% であった。

3) 反復性喘鳴と関連する背景因子は以下の通りであった。喘息の家族歴は有意な関係あったが ($P < 0.05$)、アレルギー疾患の家族歴は有意な関係なかった。それ以外で、RSV の罹患月齢とは有意な関係なし。RSV 罹患時の血清総 IgE 値は有意な関係なかった。

河野らは、

1) 2003 年から 2004 年冬期に細気管支炎と診断され入院した患者 51 名を対象として、アンケート調査を行い、28 名から解答を得て、CD14 (-159) 遺伝子多型と反復性喘鳴との関連を解析した。その結果、本遺伝子多型と反復性喘鳴の間には全体としては関連が認められなかった。

2) 有意差は得られなかったが、喘息の家族歴がない群において遺伝子型 CC の個体では反復性喘鳴を認める率が低かった。

3) RSV 細気管支炎後の反復性喘鳴とアンケート施行時における兄弟の存在および保育との間に相関があった。

4) CC を有する患者でアトピー素因を有する頻度が高かった。

近藤らは、

1) 獲得免疫について RS ウイルス感染により喘鳴が誘発された患児では、抑制系の Th1 系が低下している傾向が認められた。PHA、IL-12 あるいは IL-18 刺激された PBMCs のサイトカイン産生

について検討したところ、感染急性期、回復期で、IL-4の産生は変化を認めなかったが、Th1サイトカインであるIFN- γ の産生は感染急性期に有意に低下し、回復期に回復していた。

2) 感染に伴い喘鳴が引き起こされる病態の一つとして、尿中ロイコトリエンE4、11-デヒドロトロンボキサンB2濃度を測定し、その変化について検討した。RSウイルス感染急性期では、尿中ロイコトリエンE4が上昇している傾向を認めた。

3) 同様に、RSウイルス感染急性期では、11-デヒドロトロンボキサンB2が上昇している傾向を認めた。

4) ウイルス感染により喘鳴をきたしやすい素因を遺伝子レベルで解明するため、個々の症例の遺伝的要因について検討した。ゲノム上に存在する喘息関連遺伝子の中で、IL-13、IFN- γ 受容体1の遺伝子変異がRSウイルス感染により喘鳴をきたした症例で認められた。

3) 気管支喘息の増悪に関連する感染因子の検討
大田らは、

1) 本研究では、感染によるアレルギー性炎症増悪機序を明らかにすることを目的として、種々の菌体成分による細胞活性化を好酸球、気道上皮細胞を中心として検討した。好酸球は喘息病態に関与するアレルギー性炎症細胞として位置づけられているが、好酸球はウイルス単鎖RNAの受容体であるTLR7 mRNAを発現し、上図で示すようにそのリガンドであるR-848が接着分子発現制御、生存延長、活性酸素産生を惹起することが明らかとなった。

2) 気道上皮細胞障害、剥離は喘息の主要な病理学的特徴であるが、菌体成分が気道上皮細胞死に与える影響を検討した。ウイルス二重鎖RNAのアナログであり、TLR3リガンドであるpoly I:Cによって気道上皮細胞の細胞死が誘導された。図ではAnnexin Vとpropidium iodideの二重染色を用いてヒト健常肺由来の培養気道上皮細胞生存を検討した結果を示しているが、生存細胞が有意に減少し、アポトーシス細胞が有意に増加している。

3) これらの結果から、ウイルス由来の菌体成分として二重鎖RNA(dsRNA)は気道上皮細胞死を誘導し、一方単鎖RNA(ssRNA)は好酸球活性化を惹起することが明らかとなり、ウイルス感染による喘息増悪機構の一部を説明する可能性が示唆された。今後はこれらのTLR3、TLR7リガンドがin vivoにおいてアレルギー性気道炎症を如何に修

飾するかを既に確立しているマウス喘息モデルを用いて検討する予定である。この検討によりウイルス感染によるアレルギー性炎症増悪機構のさらなる詳細な解析及び、感染による喘息増悪の新たな治療戦略としてのTLRの可能性を探索することができると考えられる。

足立らは、

1) ウイルス感染モデルであるdsRNAの刺激により気道上皮細胞の刺激を行い、フローサイトを用いて検討した結果、TLR3やICAM-1の発現が増強していることが示された。

2) 実際にウイルス感染モデルであるdsRNAにより気道上皮細胞の刺激を行い、PANTES、IP-10、IL-8など種々のサイトカイン、ケモカインの産生を確認した。

3) これらは、ウイルス感染により好酸球や好中球が誘導され、気道アレルギー炎症の増悪へとつながることが示唆された。

吉原らは、

1) RSVを気道上皮細胞に感染させ、誘導されるサイトカイン、特に気道リモデリング関連分子の発現をGene Chipを用いて網羅的に解析した。ヒト気道上皮細胞においてRSV感染によって誘導される成長因子の遺伝子のクラスタリングを示す。赤色ほど強い発現を示し、青色ほど弱い発現を示している。この結果、シグナル値100を超えた72種の成長因子のうち約20種が非感染細胞と比較して強く(2倍以上)発現誘導された。

2) 強く発現した成長因子には、IGFBP1、VEGF、FGF、TGFなどが含まれ、感染後48時間以降に特に強く発現していた。

3) 同様に、気道上皮細胞におけるRSV感染によって、23種のMMPのうちMMP1、7、10、14が非感染細胞と比較して48時間以降に強く(2倍以上)発現していた。以上より、RSV感染は、気道のリモデリングに関与する遺伝子群の活性化を介して、気管支喘息の病態に関与する可能性が示唆された。

荒川らは、

1) ステロイドはエオタキシン産生を抑制することにより好酸球性気道炎症を制御することが報告されているが、その分子機序は不明な点が多い。デキサメタゾンにはIL-4により発現するエオタキシンのmRNAおよび蛋白の産生を24時間までは抑制したが、48時間以降では反対に増強効果を示した。

2) エオタキシンのプロモーター解析では、428 および 92 と近位プロモーターおよび Stat6 転写結合領域に変異を加えたプロモーターでも、デキサメタゾンにより活性が増強していた。このことは、24 時間までのデキサメタゾンによるエオタキシン mRNA の発現抑制とは一致せず、別の機序が関与している可能性を示唆している。

3) ハイドロコトロンにおいても、プロモーター活性は増強を示し、mRNA は 24 時間抑制、蛋白は 24 時間では抑制で、48 時間では抑制が消失することが示された。これらの結果は、ステロイドは、エオタキシン産生に dual action を呈する可能性を示唆された。

徳山らは、

1) 幼若マウスを OA で感作後反復曝露して気道敏性と好酸球数の経時的变化を成熟マウスと比較した

2) BALF 中の好酸球数は、幼若群ともに経時的に減少し、幼若群で顕著であった、

3) 炎症スコアとして定量した組織上の炎症細胞浸潤、スライドには示していないが粘液分泌細胞過形成は成熟群、幼若群ともに経時的に減少し、幼若群で顕著であった。以上より抗原反復曝露後のアレルギー炎症の進展・修復機序は個体の成熟度により修飾を受けることが示唆された

D. 考察および結論：

本年度、胎内感染に関しては、大規模調査で母親の感冒症状と子どもが 2 歳時での喘息との関連が認められた。一方、症例数には限定があるが前方視的検討では、上気道炎や胃腸炎などのウイルス感染と乳児アトピー性皮膚炎発症との関連は認めなかった。アレルギー疾患におけるフェノタイプが異なるため、今後調査を継続して乳児喘息あるいは喘息との関連を確認する必要があると思われる。新生児慢性肺疾患 (CLD) の児では、気道感染により喘鳴を呈する症例が多くみられ、治療に難渋する症例もみられる。その背景として、母体の ureaplasma 感染の関与が想定され、それに対する介入が発症を予防する可能性もあり重要な課題と考えられる。

ウイルス感染後に反復性喘鳴を呈した症例に関与する遺伝子レベルの検討は、非常に興味もたれるところであり、今後症例数を増やして解析する必要があると考えられた。

ウイルス感染による喘息の増悪に関しては、in vitro、in vivo による系で検討した。ウイルス感染気道上皮細胞はケモカインを産生して生体

防御に必要な炎症細胞を集積させるとともに、自らの細胞死によりさらなるウイルスの増殖、伝播を防いでいる可能性が示唆される。一方で惹起される炎症や、気道上皮細胞死がアレルギー性炎症存在下ではその増悪につながる可能性が示唆された。

本研究は、アレルギー疾患である気管支喘息の発症要因を多方面より検討し、アレルギー疾患の原因解明および早期介入・治療にもつながる意義深いものに発展することが期待される。

平成 16 年度 厚生労働科学研究 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業
免疫アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究
研究課題名：乳児期におけるアレルギー性疾患の予知
：母胎因子、新生児期皮膚バリア機能、臍帯血サイトカインによる
乳児期のアレルギー性疾患についての前方視的検討

分担研究者 森川昭廣 群馬大学大学院小児生体防御学教授

研究要旨：一施設で 1 年間に出生した健康新生児群 269 名について、乳児期のアトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患、食物アレルギーの発症を、生後 1 年経過後にアンケート調査した。これらの結果と、父母のアレルギー性疾患の家族歴、在胎期間中の母体感染症、早期新生児期および 1 ヶ月健診時の皮膚バリア機能、臍帯血サイトカイン・ケモカインとの関連を検討した。家族歴、母体感染症と、児のアレルギー性疾患との間に関連は認められなかった。アトピー性皮膚炎発症児においては、1 ヶ月健診児の、頬部の表面水分量、角質膜厚は、それぞれ有意に低値、高値であり、また、臍帯血 IL-7、IL-10 が有意に低値であった。これらが、乳児期のアトピー性皮膚炎発症の予知因子となる可能性があると考えられた。

研究分担者

杉山幹雄 群馬大学大学院小児科生体防御学
荒川浩一 群馬大学大学院小児科生体防御学

A. 研究目的

アレルギー性疾患の早期診断・介入は、各疾患の予後、患者の QOL 改善、アレルギーマーチへの対策などの点から重要である。乳児期のアトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患、食物アレルギーの発症が、早期新生児期および生後約 1 ヶ月時の皮膚バリア機能、アレルギー性疾患の家族歴、母胎感染症などの胎内環境、臍帯血サイトカイン・ケモカインと関連するのかを、一施設で 1 年間に出生した健康新生児群について前方視的に検討した。

B. 研究方法

対象は、開業産婦人科一施設で、2002 年 6 月から 2003 年 5 月までに出生した健康新生児 297 名中、協力の同意が得られた 269 名である。性別は、男児 140 名、女児 129 名で、平均在胎週数 39.2 ± 1.6 週、平均出生体重 3051 ± 399 g であった。新生児仮死、新生児高ビリルビン血症などの病的新生児は、除外した。

家族歴に関しては、対象児の父または母全員に対し、アレルギー性鼻炎、小児期のアトピー性皮膚炎・気管支喘息・食物アレルギーの有無について、アンケート用紙および問診

による家族歴調査を、出産時の医院滞在期間中に実施した。

胎内環境に関しては、同院の母体カルテの記載に基づいて、妊婦健診フォロー中の感染症罹患の有無（上気道炎、胃腸炎、子宮付属気炎、尿路感染症、B 群溶血性連鎖球菌・クラミジア検査陽性）を調査した。

皮膚バリア機能に関しては、角質膜厚水分量計（アサヒバイオメド社製 ASA-M1）を使用して、表面水分量、角質膜厚を測定した。皮膚バリア機能の指標としては、従来、高周波交流を用いたインピーダンス法により、経皮水分喪失量を測定する方法が広く用いられてきた。今回使用した角質膜厚水分量計は、高周波交流に加えて、低周波交流を使用し表面水分量が測定可能であり、角質膜厚も近似により測定可能である。

出産時の産科滞在時期（経膈分娩の場合は日齢 0 から 6 まで、帝王切開出生児の場合は日齢 8 まで）、毎日小児科回診を実施し、また、生後約 1 ヶ月に同院で行われる 1 ヶ月健診時とあわせて測定を行った。測定は、湿度温度一定の新生児室で、児が啼泣していないときに行い、測定部位は、前額、頬部、前腕屈側、前胸部について行った。

出生時に採血された臍帯血中のサイトカインは、血清分離・凍結保存のうえ、パイオ

プレックスにより 17 種のサイトカイン、ケモカインを測定した。

乳児期のアレルギー疾患の発症に関しては、出生 1 年経過後に、質問表を郵送し、返信ハガキに記入する方式で行った。回答が無かった家庭には、直接電話して回答を求めた。アトピー性皮膚炎については、1) 耳の下が切れる 2) かゆみがある 3) かさつきがある 4) 赤いぶつぶつがある の 4 症状のうちから、耳切れを含む 2 項目以上陽性の者、または 2 カ月以上湿疹を繰り返している者、医師によりアトピー性皮膚炎と診断されている者を、アトピー性皮膚炎発症と判定した。

喘鳴性疾患については、喘鳴を 2 回以上反復したもの、医師から喘息または喘息様気管支炎であるとの診断を受けたものを、喘鳴性疾患発症と判定した。

C. 研究結果

アンケート回答が得られたのは 269 名中 214 名で、回収率は 79.5%であった。

1) アレルギー性疾患の発症率

アトピー性皮膚炎が 42 名 (19.7%)、喘鳴性疾患が 35 名 (16.4%)、食物アレルギーが 15 名 (7%) であった。複数のアレルギー性疾患を合併していたのは 19 例で、うちアトピー性皮膚炎・喘鳴性疾患合併が 8 例、アトピー性皮膚炎・食物アレルギー合併が 9 例、全てを合併した例が 2 例であった。

2) 家族歴との関連について

父、母のアトピー性皮膚炎、気管支喘息、季節性アレルギー性鼻炎 (以下 花粉症) の有病者は、それぞれ父では、12 名、9 名、63 名で、母では 12 名、10 名、55 名であった。父または母に、アトピー性皮膚炎・気管支喘息がある場合、ない場合について、児のアトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患の発症の有無が関連するか検討したが、両者の間に有意な相関は認めなかった。父母のアトピー性皮膚炎、気管支喘息に、花粉症の有無も加えて検討したが、相関を認めなかった。

3) 胎内環境との関連について

母体の感染症の有無は、ウイルス性感染症 (上気道炎、胃腸炎) 71 名、クラミジア陽性者 9 名、B 群溶連菌 7 名、尿路感染症 6 名であった。母体のウイルス性感染症 (上気道炎、胃腸炎)、細菌感染症 (B 群溶連菌またはクラミジアに対する治療、尿路感染症) と、出生後のアトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患について、それぞれ関連を検討した。在胎期間中の感染症と、発症の有無の関連は認められなかった。

4) 皮膚バリア機能との関連について

早期新生児期、1 ヶ月健診時の皮膚バリア機能と、乳児期のアトピー性皮膚炎発症との関連を検討した。測定した各部位の皮膚のバリア機能因子について、アトピー性皮膚炎発症群と、非発症群を比較して、測定値に有意な差を認めたのは、1 ヶ月健診時の、頬部の表面水分量、頬部の角質膜厚である。アトピー性皮膚炎発症群の方が、非発症群より、頬部の表面水分量は有意に高く、角質膜厚は、有意に低い傾向が認められた。

5) 臍帯血サイトカインとの関連について

図. に示した臍帯血中のサイトカイン、ケモカイン値と、アトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患、食物アレルギー発症の有無について検討した。発症群、非発症群間で、測定値に有意な差を認めたのは、アトピー性皮膚炎の検討における IL-7、IL-10 で、それぞれ、アトピー性皮膚炎発症群が、非発症群に比べて有意に低値を示した。

D. 考察

乳児期の、アトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患、食物アレルギーの発症率、および家族歴との相関に関しては、従来の報告と、ほぼ同水準にあり、今回の調査対象で母集団とした新生児群が、特にかたよりのないものであると考えられる。

母胎環境に関しては、在胎中の母胎感染症が、幼児期も含めた喘鳴性疾患発症と関連することが知られている。今回我々が、1 施設で約 1 年間に出生した健康新生児について、乳児期の喘鳴性疾患について前方視的に検

討した結果では、この傾向は認められなかった。対象とした児は、今後も、加齢とともにアレルギー性疾患を新たに発症するかどうかについて、追跡を続ける必要がある。

皮膚バリア機能に関しては、従来、経皮水分喪失量が、その指標として汎用されてきた。また、経皮水分喪失量の増大が、皮膚の乾燥、炎症の惹起につながり、アトピー性皮膚炎の発症・増悪因子となることが知られている。我々の検討で、経皮水分喪失量は、表面水分量と良く相関することを、すでに報告した。今回、健康新生児について広範な測定を行った結果、アトピー性皮膚炎を乳児期に発症した児の群では、非発症群に比べ、表面水分量が、早期新生児期には差が認められないが、1ヶ月健診時には、有意差を以って高値であることが確認された。このことより、乳児アトピー性皮膚炎を発症した児では、皮膚バリア機能は、出生直後には変化を認めないが、生後約1ヶ月の時点では、すでに低下が始まっている可能性が考えられる。

アトピー性皮膚炎発症機序のひとつに、Th 1系、Th 2系サイトカイン分泌不均衡があげられている。臍帯血中のサイトカイン値と、出生後のアトピー性皮膚炎発症については、これまでの検討が少ない。われわれの今回の検討では、IL-7、IL-10という異なる系列の値が、アトピー性皮膚炎発症群で、ともに有意に低値であった。このことは、アトピー性皮膚炎発症機序が、サイトカインの作用のみで、すべてを明確に説明することが、容易でないことを示唆していると思われる。これら、有意に低値を示したサイトカインについて、*in vitro*における知見と、調査対象のアトピー性皮膚炎発症の今後の消長をさらに追跡することが必要と考えられる。

E. 結論

1施設で出生した健康新生児269名の、乳児期におけるアレルギー性疾患の発症率は、追跡調査が可能であった214名中、アトピー性皮膚炎が42名(19.7%)、喘鳴性疾患が35名(16.4%)、食物アレルギーが15名(7%)であった。

父、母のアトピー性皮膚炎、気管支喘息、

季節性アレルギー性鼻炎と、児のアトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患の発症の有無については、有意な相関は認めなかった。

在胎期間中の母胎感染症と、乳児期のアトピー性皮膚炎、喘鳴性疾患の発症について、それぞれ、有意な相関は、認められなかった。

皮膚バリア機能に関しては、アトピー性皮膚炎発症群の方が、非発症群より、生後約1ヶ月時の、頬部の表面水分量が有意に多く、角質膜が有意に薄かった。

臍帯血サイトカイン値に関しては、アトピー性皮膚炎発症群が、非発症群より、IL-7、IL-10が、ともに有意に低値であった。

以上より、乳児期のアトピー性皮膚炎発症に関して、アレルギー疾患の家族歴、母胎感染症は、予測因子となる可能性は低く、生後約1ヶ月児の皮膚バリア機能と、臍帯血のIL-7、IL-10は、予測因子になる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Suzuki M, Arakawa H, Kobayashi Y, Tamura K, Mochizuki H, Tokuyama K, Tamari M, Mao X-Q, Shirakawa T, Izuhara K, Morikawa A. Stat6 Variants in child and adult asthma. *Allergology International*, 53:241-244, 2004.
- 2) Suzuki M, Arakawa H, Tamura K, Takizawa T, Mochizuki H, Tokuyama K, Tamari M, Mao X-Q, Shirakawa T, Morikawa A. Dinucleotide repeat polymorphisms in the Signal transducers and activators of transcription 6 (Stat6) gene in allergic diseases. *Allergology International*, 53:235-240, 2004.
- 3) Arakawa H, Morikawa A. The genetics of pollinosis. *Clin Exp Allergy, Reviews*, 4:3-7, 2004.

- 4) 望月博之、森川昭廣；小児呼吸器疾患の主要症状と最近の考え方(総説) 小児科臨床 57 卷 8 号 Page1755-1763(2004. 08)
- 5) 望月博之、森川昭廣；小児の慢性咳嗽の診断と治療(総説) 日本小児科学会雑誌 108 卷 7 号 Page956-964(2004. 07)
- 6) 望月博之、森川昭廣；小児の気道過敏性とウイルス感染(総説) 日本小児アレルギー学会誌(0914-2649) 18 卷 1 号 25-31(2004. 03)

- 7) 望月博之、森川昭廣；呼吸器感染症に対する鎮咳・去痰薬の使用法 小児内科、36 卷 1 号 68-73(2004. 01)

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1、特許取得
特になし
- 2、実用新案登録
特になし

家族歴の内訳

父

アトピー性皮膚炎:12名
喘息:9名
花粉症:63名

母

アトピー性皮膚炎:12名
喘息:10名
花粉症:55名

喘息とアトピー性皮膚炎

	AD あり	なし
あり	7	28
なし	35	143

P=0.963

花粉症を含めて

	AD あり	なし
あり	19	93
なし	23	78

P=0.287

表1. 家族歴とアトピー性皮膚炎児(42名)との関連

母親感染症の内訳

上気道炎: 71名(発熱18名)
胃腸炎: 21名

クラミジア: 9名
GBS: 7名
尿路感染: 6名

合計22名

	AD あり	なし
ウイルスあり	20	72
なし	22	99

P=0.518

	AD あり	なし
細菌あり	6	16
なし	36	155

P=0.347

表2. 母体感染とアトピー性皮膚炎児(42名)との関連

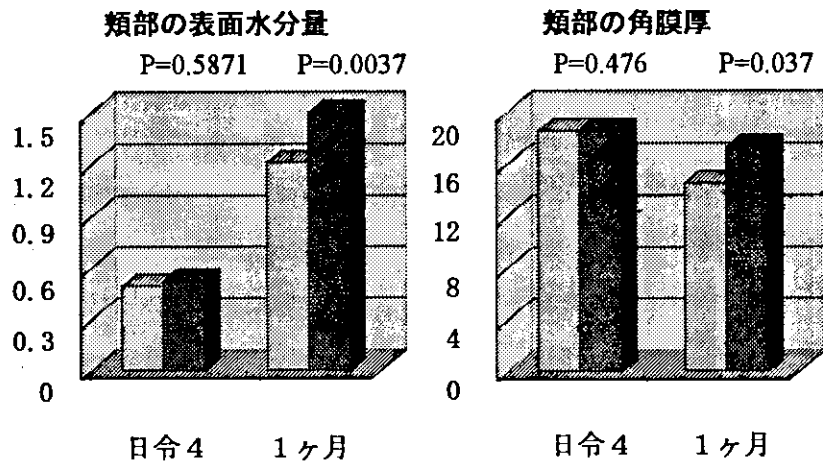
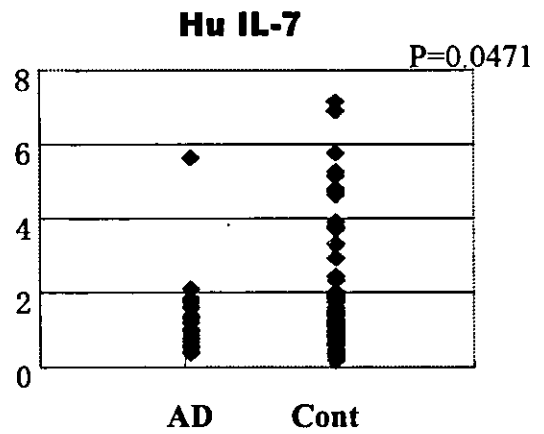
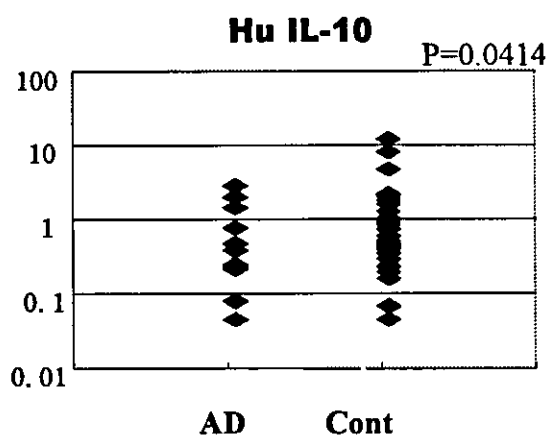


図1. 皮膚生理機能



研究課題名：免疫アレルギー疾患に係わる胎内・胎外因子の同定に関する研究

分担課題名：ウイルス感染がアレルギー発症に及ぼす影響

分担研究者 近藤 直実 岐阜大学大学院医学研究科小児病態学・教授

研究要旨 アレルギー疾患の発症には、遺伝的要因と環境要因が相互に影響し合っていると考えられている。ウイルス感染が自然免疫系と獲得免疫系とそれら相互に及ぼす影響を検討し、アレルギー発症誘導増悪への関わりを分子生物学的に解析した。RS ウイルス感染により、自然免疫が活性化され、ついで獲得免疫系が作動する。RS ウイルス感染によりある種のTLRが活性化され、ついで獲得免疫系のTh1系が抑制され、その結果Th2系が相対的に優位となり、ひいては炎症性細胞でのアラキドン酸カスケードが作動し、アレルギーや喘鳴の発症誘導増悪が進むものと考えられた。さらに、これらの反応が引き起こされやすい遺伝的要因の存在が考えられた。

研究協力者

青木美奈子	岐阜大学大学院医学研究科 小児病態学 助手
金子英雄	岐阜大学大学院医学研究科 小児病態学 講師
松井永子	岐阜大学大学院医学研究科 小児病態学 兼任講師
川本典生	岐阜大学大学院医学研究科 小児病態学 医員

される結果を十分に説明し理解（インフォームドコンセント）を得た上で採血・採尿が行われた。また倫理面でも、結果による不利益は全く生じないか、または配慮が充分になされることから問題がないと判断された。

C. 研究結果

(1) RS ウイルス感染によって自然免疫系のTLRの発現に変化がおこるか検討した(図1)。TLR1, 2, 4については、定常状態でも感染急性期においても発現が認められた。TLR3とTLR9は、感染の急性期に発現が認められた。RS ウイルス感染により、これらを介して自然免疫系が活性化されると考えられる。しかしTh1/Th2バランスを調節するとされている調節性T細胞やIL-10は、今のところウイルス感染によって特に著しい変化は認められなかった。(2) 獲得免疫についてRS ウイルス感染により喘鳴が誘発された患児では、Th2への分化が誘導されている傾向が認められた。さらに、PHA、IL-12あるいはIL-18刺激されたPBMCsのサイトカイン産生について検討したところ、感染急性期、回復期で、IL-4の産生は変化を認めなかったが、Th1サイトカインであるIFN- γ の産生は感染急性期に有意に低下し、回復期に回復していた(図2)。(3) 感染に伴い喘鳴が引き起こされる病態の一つとして、尿中ロイコトリエンE4、11-デヒドロトロンボキサンB2濃度を測定し、その変化について検討した(図3)。RS ウイルス感染急性期で

A. 研究目的

アレルギー疾患の発症には、遺伝的要因と環境要因が相互に影響し合っていると考えられている。環境要因の一つとして乳幼児期にうけるウイルス感染がアレルギーの発症に大きな影響を与えていることが明らかとなってきた。ウイルス感染が自然免疫系と獲得免疫系とそれら相互に及ぼす影響を検討し、アレルギー発症誘導増悪への関わりを分子生物学的に解析した。

B. 研究方法

乳幼児を対象に、呼吸器感染時に、RS ウイルス抗原を検査。RS ウイルス抗原陽性群、陰性群、喘鳴の発現の有無、アトピーの有無などにて群分けを行った。感染急性期・回復期に血液、尿をサンプリングした。これらを用いてToll like receptor (TLR)の発現、Th1・Th2系サイトカインの産生、アラキドン酸カスケードの検索、遺伝子検索を行った。

(倫理面への配慮)

研究対象者には本研究の内容、方法および予想

は、尿中ロイコトリエン E4、11-デヒドロトロンボキサン B2 共に上昇している傾向を認めた。また、11-デヒドロトロンボキサン B2 については特に顕著に上昇を認め、RS ウイルス感染を認めなかった喘息発作群と比較してもより上昇していた。(4) ウイルス感染により喘鳴をきたしやすい素因を遺伝子レベルで解明するため、個々の症例の遺伝的要因について検討した。ゲノム上に存在する喘息関連遺伝子の中で、IL-13、IFN- γ 受容体 1 の遺伝子変異が RS ウイルス感染により喘鳴をきたした症例で認められた。

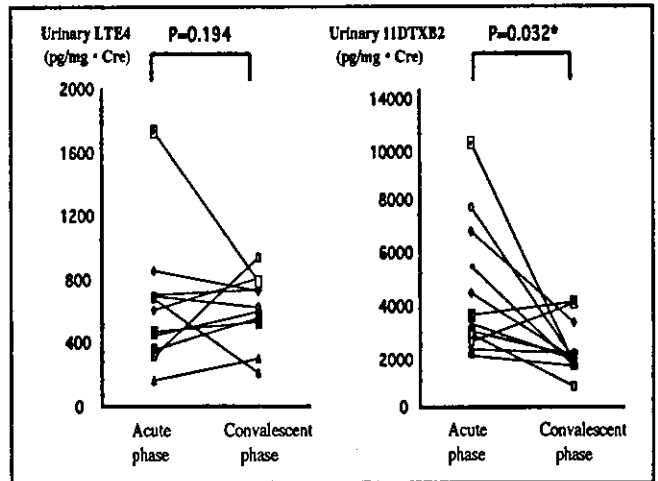


図3 RSV 感染の期間の尿の尿中ロイコトリエンと11-デヒドロトロンボキサン B2 レベル

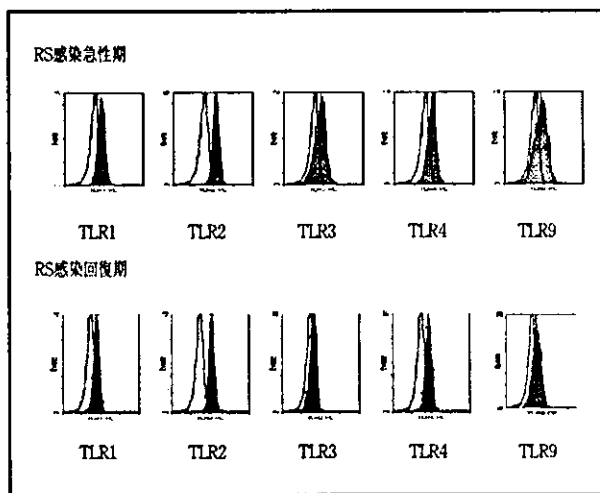


図1 RS ウイルス感染による単球上の TLR の発現の変化

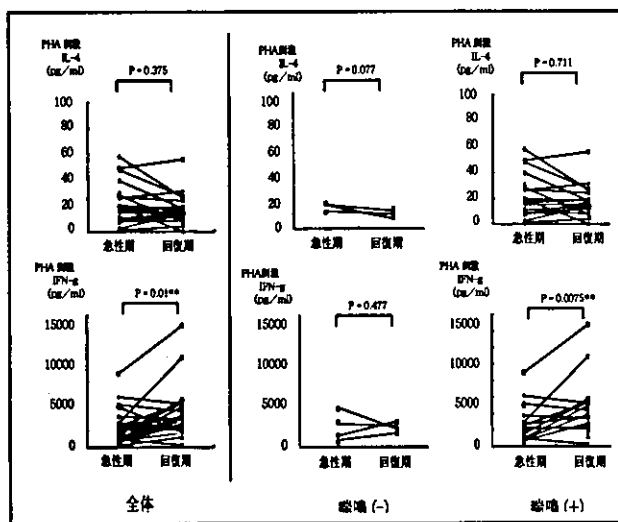


図2 RS ウイルス感染時の PHA 刺激による PBMCs から IL-4 および IFN- γ 産生

D. 考察および結論

RS ウイルス感染により、自然免疫が活性化され、ついで獲得免疫系が作動する。RS ウイルス感染によりある種の TLR が活性化され、ついで獲得免疫系の Th1 系が抑制され、その結果 Th2 系が相対的に優位となり、ひいては炎症性細胞でのアラキドン酸カスケードが作動し、アレルギーや喘鳴の発症誘導増悪が進むものと考えられた。さらに、これらの反応が引き起こされやすい遺伝的要因の存在が考えられた。

E. 研究発表

<論文発表>

1、Kondo, N., Matsui, E., Kaneko, H., Aoki, M., Kato, Z., Fukao, T., Kasahara, K., Morimoto, N. RNA editing of interleukin-12 receptor beta2, 2451 C-to-U (Ala 604 Val) conversion, associated with atopy. Clin Exp Allergy 34:363-368 (2004)

2、Kondo, N., Matsui, E., Kaneko, H., Kato, Z., Teramoto, T., Shikano, H., Aoki, M., Ohnishi, H., Tatebayashi, K., Omoya, K., Kondo, M., Matsukuma, E., Kasahara, K., Morimoto, N. Genetic defects in downregulation of IgE production and a new genetic classification of atopy. Allergology International. 53:77-85 (2004)

- 3、Yoshikawa K., Matsui, E., Inoue R., Kaneko H., Teramoto T., Aoki M., Kasahara K., Shinoda S., Fukutomi O., Kondo, N. Urinary leukotriene E4 and 11-dehydro-thromboxane B2 excretion in children with bronchial asthma. *Allergology International*. 53:127-134 (2004)
- 4、Yamamoto, Y., Kato, Z., Matsukuma, E., Li A, Omoya, K., Hashimoto, K., Ohnishi, H., Kondo, N. Generation of highly stable IL-18 based on a ligand-receptor complex structure. *Biochem Biophys Res Commun*. 317:181-186 (2004).
- 5、Omoya, K., Kato, Z., Kato, Z., Matsukuma, E., Li A., Hashimoto, K., Yamamoto, Y., Ohnishi, H., Kondo, N. Systematic optimization of active protein expression using GFP as a folding reporter. *Protein Expr Purif*. 36:327-332 (2004).
- 6、Asano T, Kaneko H, Terada T, Kasahara Y, Fukao T, Kasahara K, Kondo N. Molecular analysis of B-cell differentiation in selective or partial IgA deficiency. *Clin Exp Immunol*.136:284-90. (2004)
- 7、Jiang, M., Tsukahara, H., Ohshima, Y., Zou, C., Ohta, N., Sato, S., Todoroki, Y., Hiraoka, M., Nambu, M., Tanaka, T., Yamaguchi, E., Kondo, N., Mayumi, M. Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism in Patients with Bronchial Asthma. *International Medical Journal*11. 119-123 (2004)
- 8、Kondo M., Suzuki K., Inoue R., Sakaguchi H., Matsukuma E., Kato Z., Kaneko H., Fukao T., Kondo, N. Characterization of T-cell clones specific to ovomucoid from patients with egg-white allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol*, (in press)
- 9、Tatebayashi K., Matui E., Kaneko H., Fukao T., Kasahara K., Kondo N. IL-12B promoter polymorphism associated with asthma and IL-12B transcriptional activity. *Allergology International* (in press)

<学会発表>

- 1、近藤直実：イブニングシンポジウム2：ウイルス感染と喘息・アレルギー ―遺伝子生態医学の視点から―。日本呼吸器学会学術講演会（第44回）（2004年3月31日，東京）
- 2、青木美奈子、松井永子、近藤直実 他：RSウイルス感染と気管支喘息発症についての検討。日本アレルギー学会 春期臨床大会（第16回）（2004年5月12日～5月14日，群馬）
- 3、青木美奈子、松井永子、近藤直実 他：ウイルス感染と免疫アンバランス。日本小児アレルギー学会シンポジウム（第41回）（2004年11月27日～11月28日，東京）
- 4、近藤直実：イブニングシンポジウム2：ウイルス感染と喘息・アレルギー ―遺伝子生態医学の視点から―。日本呼吸器学会学術講演会（第44回）（2004年3月31日，東京）

F. 知的財産権の出願・登録状況

- 1、特許取得
特になし
- 2、実用新案登録
特になし

免疫アレルギー疾患に関わる胎内・胎外因子の同定に関する研究班 ヒト気道上皮細胞活性化、細胞死に關与する菌体成分の同定

分担研究者：大田 健 帝京大学医学部内科学講座教授

アレルギー疾患、特に気管支喘息増悪の原因として感染が深く関与しており、喘息増悪の80%でウイルスが同定されていることや、クラミジア、マイコプラズマによる増悪の可能性が報告されている。このような菌体成分を認識する受容体として10種のヒト Toll-like receptor (TLR)が同定されて以降、菌体成分認識機構が急速に明らかになってきている。感染によるアレルギー性炎症増悪機構を明らかにする目的で、本研究では種々の TLR リガンドの気道上皮細胞に及ぼす影響を網羅的に検討した。TLR2, 3, 4, 5, 7/8, 9 リガンドのうち、TLR3 リガンドである poly I:C のみが、気道上皮細胞からのケモカイン産生、気道上皮細胞死を惹起することが明らかになった。poly I:C はウイルス増殖過程で生成される二重鎖 RNA のアナログである。種々のウイルスが気道上皮細胞を活性化することが知られてきたが、ウイルス成分の中でも二重鎖 RNA がその責任分子の一つであることが示唆された。ウイルス二重鎖 RNA により惹起される炎症や、気道上皮細胞死がアレルギー性炎症の増悪につながる可能性があり、TLR3 の阻害は感染によるアレルギー性気道炎症増悪の新たな治療標的候補たりうる可能性が想定される。今後は動物モデルを用いて、TLR3 リガンドが惹起する炎症病態の詳細な検討を行い、さらに喘息モデル動物の病態を TLR3 リガンドが如何に修飾するかを検討することで、ウイルス感染によるアレルギー性炎症増悪機構をさらに明らかにしていく予定である。

研究協力者：長瀬洋之 (帝京大学医学部内科助手)、山下直美 (帝京大学医学部内科助教授)

A 研究目的 本邦では、いまだに喘息死患者が年 3000 人を越えており、その増悪の原因として感染が深く関与している。成人喘息増悪の 80%に感冒様症状を認めること、学童喘息発作時には 80%でウイルスが検出されることや、クラミジア、マイコプラズマによる増悪の可能性も報告され

ている。このような菌体成分を認識する受容体として10種のヒト Toll-like receptor (TLR)が1997年に同定されて以降、菌体成分認識機構が急速に明らかになってきている。我々は、感染によるアレルギー性炎症増悪機構を明らかにする目的で、細胞傷害性メディエーター遊離を介して喘息病態に中心的に関与することが想定されている好酸球における TLR 発現、機能を検討してきた。そして、ウイルス単鎖 RNA の受容体である TLR7/8 リガンドが好酸球を活性

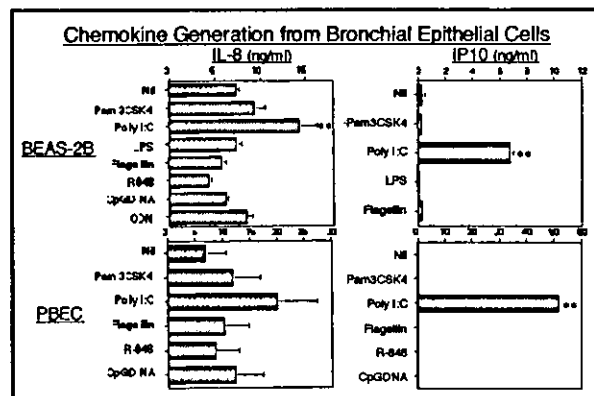
化することを見いだしてきた。本研究では菌体成分の気道上皮細胞に及ぼす影響に注目した。気道上皮細胞は外界環境からの最前線のバリアとして存在するが、ウイルス感染下ではケモカイン産生等を介して炎症を統御する一方、この結果惹起される過剰な炎症がアレルギー性炎症を増悪させる可能性も示唆されている。しかしながら、気道上皮細胞がいかなる菌体成分をいかなる機構で認識するかは不明な点が多い。本研究は TLR リガンドによる気道上皮活性化を網羅的に検討することで、アレルギー疾患増悪に関わる胎外因子としての菌体成分を同定することを目的とした。炎症細胞集積に関与するケモカイン産生と、気道傷害に関与する気道上皮細胞死誘導を指標として検討した。

B 方法 気道上皮細胞株 BEAS-2B, および文書にて同意を得た肺癌手術検体の健常部由来のヒト初代培養気道上皮細胞を TLR2 (Pam₃CSK₄), TLR3 (poly I:C), TLR4 (LPS), TLR5 (Flagellin), TLR7/8 (R-848), TLR9 (CpGDNA)リガンドで 72 時間刺激後、培養上清中の IL-8, IP-10 を ELISA にて定量した。また、細胞生存を annexin-V, propidium iodide による二重染色後、FACS を用いて解析した。TUNEL アッセイでも細胞死を検討した。

C 結果および考察 まず、いかなる TLR リガンドが気道上皮細胞を活性化するかを明らかにする目的で、好中球遊走に関与す

る IL-8、Th1 リンパ球遊走に関与する IP-10 といったケモカイン産生を指標として網羅的に検討した。図 1 に示すように、BEAS-2B において、種々の TLR リガンドのうち、TLR3 リガンドである poly I:C のみが有意な IP-10 産生を誘導し、IL-8 産生を有意に増強した。また、同様の結果がヒト初代培養気道上皮細胞でも得られた。TLR3 リガンドが気道上皮細胞を活性化することは知られていたが、種々の TLR リガンドの中でも、気道上皮細胞は TLR3 リガンド特異的に活性化されることが明らかとなった。

図 1 TLR リガンドによる気道上皮細胞からのケモカイン産生



喘息における重要な病理学的所見は、気道上皮細胞の損傷、剥離であり、気道上皮細胞死が病態形成に関与すると想定されている。これまで、ウイルス感染気道上皮細胞がアポトーシスに陥ることは報告されてきたが、ウイルスのいかなる成分が責任分子であるかは明らかではなかった。そこで、TLR リガンドの気道上皮細胞生存に及ぼす影響を網羅的に解析した。図 2 に示すよう

に、ケモカイン産生パターンと同様に、TLR3 リガンドのみが有意に生存細胞を減少させ、アポトーシス、ネクローシス細胞を増加させた。図3に示すように poly I:C は 24 時間後から有意な生存細胞減少、ネクローシス細胞増加を、48 時間後から有意なアポトーシス細胞増加を惹起した。また、図4に示すようにその効果は用量依存的であった。

図2 TLR リガンドの気道上皮細胞生存に及ぼす影響

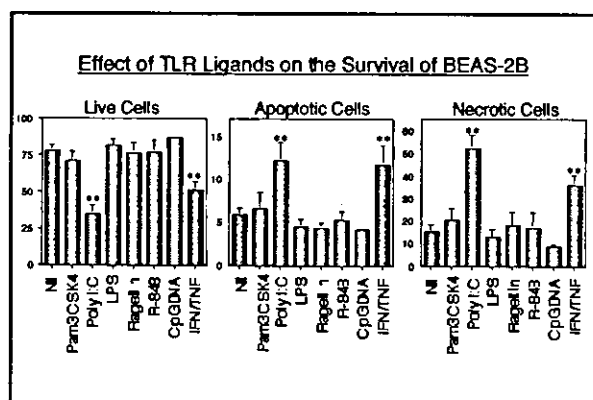


図3 poly I:C の気道上皮細胞生存に及ぼす時間依存性

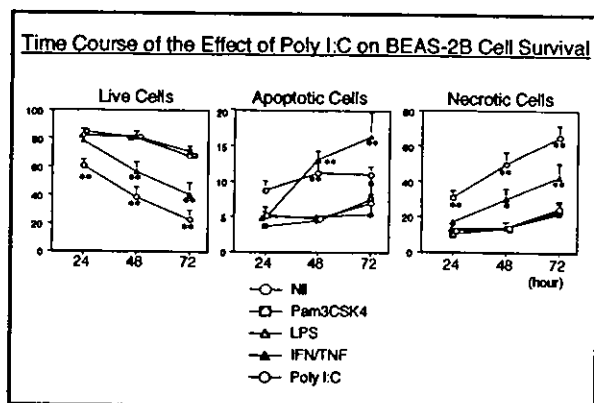


図4 poly I:C の気道上皮細胞生存に及ぼす用量依存性

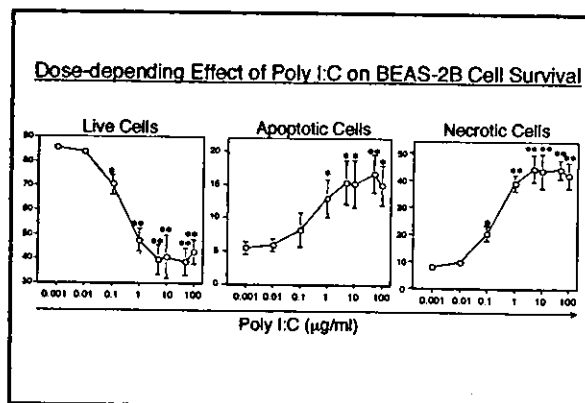
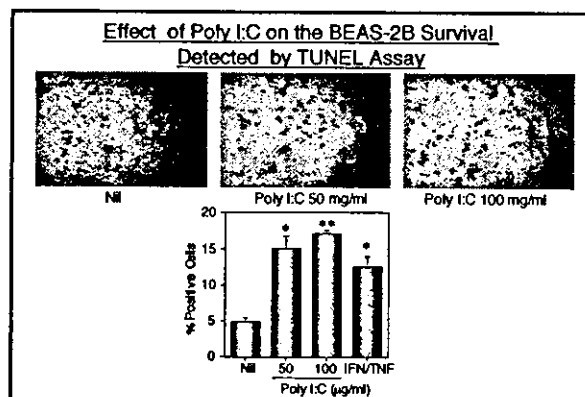


図5 TUNEL アッセイを用いた poly I:C による気道上皮細胞死の検討

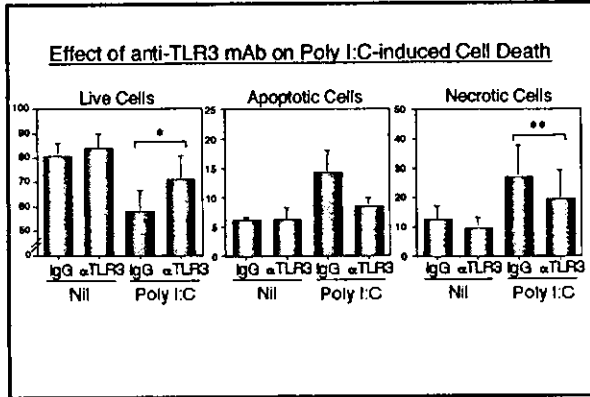


また、図5に示すように細胞死誘導を TUNEL アッセイを用いて検討したが、同様に poly I:C が気道上皮細胞死を誘導することが確認された。

次に poly I:C による気道上皮細胞死が TLR3 を介していることを抗 TLR3 モノクローナル抗体を用いて確認した。図6に示すように、抗 TLR3 抗体は無刺激での気道上皮細胞生存には影響を与えなかったが、poly I:C 刺激下では有意に生存減少を回復させ、気道上皮細胞死における TLR3 の関与が示さ

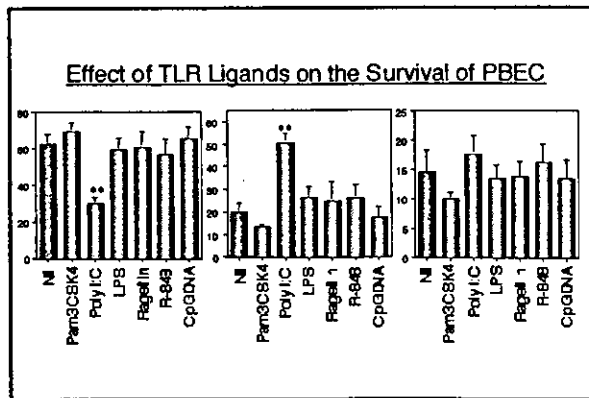
れた。

図6 Poly I:Cによる気道上皮細胞死に及ぼす抗TLR3抗体の影響



BEAS-2B を用いた検討結果をヒト初代培養気道上皮細胞でも検討したが、同様の結果が得られた。図7に示すように、poly I:C のみが細胞生存を短縮し、アポトーシス細胞を増加させた。

図7 ヒト初代培養気道上皮細胞生存に及ぼす poly I:C の影響

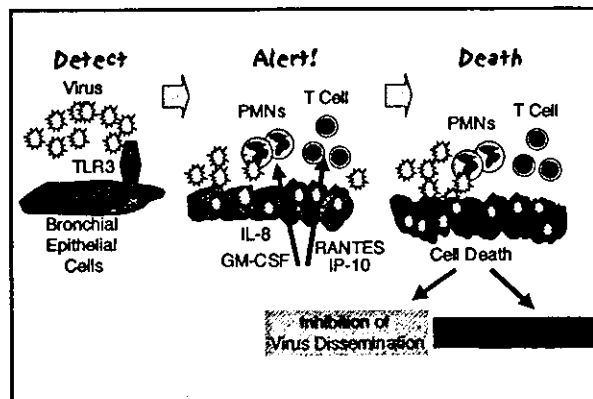


poly I:C はウイルス増殖過程で生成される二重鎖 RNA のアナログである。種々のウイルスが、気道上皮細胞活性化や、気道

上皮細胞死を惹起することが知られてきたが、以上の結果よりウイルス成分の中でも二重鎖 RNA が重要な役割を果たしていることが示唆された。またその受容体である TLR3 の関与も抗 TLR3 抗体を用いた検討で示唆された。さらには、気道上皮細胞が種々の TLR リガンドの中でも TLR3 リガンドに特異的に反応することから、気道上皮細胞はウイルス特異的に活性化される可能性も示唆された。

正常状態では、ウイルス感染気道上皮細胞はケモカインを産生して生体防御に必要な炎症細胞を集積させると共に、自らの細胞死によりさらなるウイルスの増殖、伝播を防いでいる可能性が示唆される。一方で惹起される炎症や、気道上皮細胞死がアレルギー性炎症存在下ではその増悪につながる可能性が示唆された (図8)。

図8 ウイルス感染時の気道上皮細胞のふるまい (仮説)



E 結論

気道上皮細胞活性化、細胞死誘導に関与する菌体成分として TLR3 リガンドであるウイルス二重鎖 RNA が同定された。TLR3 の阻害は感染時に惹起される過剰な炎症や気道上皮細胞死によるアレルギー性気道炎症増悪の抑制につながる可能性があり、新たな治療標的候補たりうる可能性がある。しかしながら、潜在的にはウイルスに対する生体防御を弱める可能性もあり、有効な抗ウイルス薬の開発も重要と考えられる。TLR3 は樹状細胞、肥満細胞等での発現も報告されている。今後は動物モデルを用いて、TLR3 リガンドが惹起する炎症病態の総合的な検討を行い、さらに喘息モデル動物の病態を TLR3 リガンドが如何に修飾するかを明らかにすることで、ウイルス感染によるアレルギー性炎症増悪機構をさらに明らかにしていきたい。

F 業績

1. 論文発表

1. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Expression and function of Toll-like receptors in eosinophils: activation by Toll-like receptor 7 ligand. *J Immunol*. 2003 Oct 15;171(8):3977-82.
2. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Comparison of Expression and Function of Toll-like Receptors in Eosinophils and Neutrophils. *Allergy Clin Immunol Int* (in press).
3. 長瀬洋之、大田健 喘息と Toll-like receptor.

Annual Review 呼吸器 2005 73-78.中外医学社.

4. 長瀬洋之、平井浩一、大田健 好酸球と Toll-like receptors (TLRs). *Asthma frontier* 3:20-28, 2004 医薬ジャーナル社.

2. 学会発表

1. 長瀬洋之、平井浩一、山下直美、足立哲也、中野純一、山本一彦、大田健: Toll-like 受容体刺激による気道上皮細胞からのケモカイン産生とサイトカインによる制御. 第 54 回日本アレルギー学会総会 11/4, 横浜, 2004.
2. 長瀬洋之、平井浩一、大田健: シンポジウム 10: アレルギー治療の分子標的薬 2. 細胞表面の受容体を標的とする治療戦略. 第 54 回日本アレルギー学会総会 11/6, 横浜, 2004.
3. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K: Cytokine-Mediated Regulation of Toll-like Receptor Expression in Eosinophils. American Academy of Allergy Asthma & Immunology 60th Annual Meeting, Mar. 20, San Francisco, USA, 2004.
4. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Hirai K. Comparison of Expression and Function of Toll-like Receptors in Eosinophils and Neutrophils. *Collegium Internationale Allergologicum 25th Symposium*, Aug. 28, Bornholm, Denmark, 2004.