

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）

分担研究報告書

アレルギー疾患の遺伝的要因と環境要因の相互作用に関する研究

- 樹状細胞によるIgEクラススイッチの誘導 -

分担研究者 柳原行義

国立病院機構相模原病院臨床研究センター遺伝子診断・治療研究室長

研究協力者 梶原景一、品澤美樹、森嶋大貴、大路バク、稲葉奈緒美、谷口正実、秋山一男  
(国立病院機構相模原病院臨床研究センター)

研究要旨：樹状細胞を dsRNA や CpG-A で刺激すると、IFN- $\alpha$ のオートクリン産生を介して BLyS/APRIL の発現は増強された。また、例えば dsRNA で刺激した樹状細胞を IL-4 存在下で B 細胞と共培養すると、germline C $\epsilon$ 転写に加えて、AID 転写、S $\mu$ /S $\epsilon$ 組換えおよび mature C $\epsilon$ 転写が誘導された。このような樹状細胞依存性の IgE クラススイッチの誘導は抗 BLyS 抗体の添加によって抑制され、また抗 BLyS 抗体の存在下では可溶性 BCMA の添加によってさらに強く抑制された。可溶性 BLyS/APRIL と IL-4 で共刺激した B 細胞には S $\mu$ /S $\epsilon$ 組換え、Ku70/80 核内移行および mature C $\epsilon$ 転写のいずれも誘導されたが、IgE を産生する形質細胞はほとんど検出されなかった。しかし、さらに抗 IgM 抗体を添加すると、細胞増殖の増強を伴って形質細胞への分化が促進された。一方、TLR3 遺伝子には 3 箇所、また TLR9 遺伝子には 1 箇所、遺伝的な多型部位が同定されたが、いずれの多型もアレルギー疾患との有意な関連は認められなかった。以上の結果から、自然免疫を介して活性化された樹状細胞は IL-4/IL-13 存在下では B 細胞に TI 抗原に対する IgE クラススイッチと IgE 産生を誘導すると考えられた。

**A. 研究目的**

アレルギーの発症や増悪には微生物感染が環境要因として関与している。微生物構成成分のパターン認識には Toll-like receptor (TLR) ファミリーが重要な役割を果たしている。また、樹状細胞 (DC) は自然免疫に加えて、ナイーブ T 細胞への抗原提示を介して獲得免疫の誘導にも関与している。さらに、DC は B lymphocyte 刺激因子 (BLyS) や a proliferation-inducing ligand (APRIL) を発現することによって B 細胞とも接触する。

本研究では、微生物感染と IgE 産生との関係を明らかにするために、TLR3 リガンドの dsRNA や TLR9 リガンドの CpG ODN (CpG-A, CpG-B) で刺激した DC を用いて BLyS/APRIL 依存性の IgE クラススイッチの誘導活性について検討した。また、TLR3 と 9 の遺伝子多型についても解析した。

**B. 方法**

インフォームドコンセントが得られた健常者とアレルギー患者の末梢血単核細胞から形質細胞様 DC (pDC)、単球および B 細胞を分離した。化した後、IL-4 存在下で B 細胞と共培養すると、

さらに、単球を IL-4 と GM-CSF で刺激してミエロイド系 DC (mDC) を誘導した。DC サブセットにおける TLR ファミリー、BLyS および APRIL の mRNA 発現は real-time PCR、BLyS と APRIL のタンパク発現は FACS、サイトカイン産生は ELISA で測定した。activation-induced cytidine deaminase (AID)、germline C $\epsilon$  および mature C $\epsilon$  の mRNA 発現は RT-PCR や competitive PCR、S $\mu$ /S $\epsilon$  組換え産物は nested PCR、Ku70/80 の核内移行は Western blot や共焦点レーザー顕微鏡、細胞増殖は <sup>3</sup>H-TdR uptake、IgE 産生は RIA で測定した。

また、TLR3 と 9 の遺伝子多型については、TaqMan PCR で解析した。尚、TLR 遺伝子の多型解析は当院の倫理委員会の承認を得て行った。

**C. 結果**

CD206 陽性 mDC は TLR3 を発現していたが、CD123 陽性 pDC は TLR9 を発現していた。mDC では dsRNA の刺激により、また pDC では CpG-A の刺激により IFN- $\alpha$  のオートクリン産生を介して BLyS/APRIL の発現が増強された。dsRNA で刺激した mDC を固定化した後、IL-4 存在下で B 細胞と共培養すると、

germline C $\epsilon$ 転写に加えて、AID転写、S $\mu$ /S $\epsilon$ 組換え導される可能性が強く示唆される。一方、TLR3えおよびmature C $\epsilon$ 転写が誘導された。このようの発現レベルは、TLR9とは異なり、アレルギーなmDC依存性のIgEクラススイッチの誘導は抗患者では健常者に比べて低い傾向が認められたBlyS抗体の添加によって抑制され、また抗BlySが、これにはTLR3の遺伝的多型は関与していない抗体の存在下ではBlySとAPRILに共通な高親和性いと考えられた。受容体 (BCMA) の可溶性分子の添加によってさらに強く抑制された。

#### E. 結論

また、可溶性のBlyS/APRILはIL-4存在下ではB dsRNAやCpG ODNはDCにBlyS/APRILの発現を増細胞にS $\mu$ /S $\epsilon$ 組換え、Ku70/80核内移行および強するので、TLR3や9を介して活性化されたDCはmature C $\epsilon$ 転写を誘導したが、IgEを産生する形B細胞と接触することによってIL-4/IL-13存在下質細胞はほとんど検出されなかった。しかし、ではTI抗原に対するIgE産生の誘導に寄与していさらに抗IgM抗体を添加すると、細胞増殖の増強ると考えられた。を伴って形質細胞への分化が促進された。実際、上清中にはIgEが検出された。

#### F. 研究発表

アレルギー患者のmDCにおいては健常者に比べてTLR3 mRNAの発現レベルのみならず、dsRNA刺激によるIFN- $\alpha$ 産生やBlyS/APRIL発現にも低い傾向が認められた。また、TLR3のmRNA発現は、BlyS/APRILと同様、dsRNAやIFN- $\alpha$ の刺激によって増強された。一方、TLR3遺伝子にはプロモーター、イントロン2、エクソン4にそれぞれ1箇所、またTLR9遺伝子にはイントロン1に1箇所、遺伝的な多型部位が同定されたが、いずれの多型もアレルギー疾患との有意な関連は認められなかった。

#### 論文発表

#### D. 考察

本研究では、微生物感染とIgE産生との関係を明らかにするために、dsRNAやCpG ODNで刺激したDCを用いてBlyS/APRILの発現を解析すると共に、BlyS/APRIL依存性のIgEクラススイッチの誘導活性についても検討した。DCにおけるBlyS/APRILの発現はdsRNAやCpG-Aの刺激によるIFN- $\gamma$ のオートクリン産生を介して増強され、またDCはIL-4存在下ではB細胞にBlyS/APRIL依存的にIgEクラススイッチを誘導することが明らかとなった。同様な誘導活性は可溶性BlyS/APRILを用いても得られたが、IgEを産生する形質細胞への増殖分化にはさらに抗IgM抗体によるB細胞抗原受容体 (BCR) の架橋が必要であった。したがって、DCと接触したB細胞が形質細胞に最終分化するためには、BCRの架橋が重要な役割を果たしている。また、IL-4/IL-13が過剰産生されているアレルギー患者が微生物感染した場合には、T細胞非依存性 (TI) 抗原に対してIgE産生が誘

1. Kajiwara K, Shinazawa M, Morishima H, Yanagihara Y.:

Differential effect of IL-4 and IL-13 on the expression of recombination-activating genes in mature B cells from human peripheral blood. Cell. Immunol. 227, 121-128, 2004.

2. Fujii-Maeda S, Kajiwara K, Ikizawa K, Shinazawa M, Yu B, Koga T, Furue M, Yanagihara Y:

Reciprocal regulation of thymus and activation-regulated chemokine/ macrophage-derived chemokine production by interleukin (IL)-4/IL-13 and interferon- $\gamma$  in HaCaT keratinocytes is mediated by alternations in E-cadherin distribution. J. Invest. Dermatol. 122, 20-28, 2004.

3. 柳原行義:

IgEの産生調節機構. 分子呼吸器病 8, 177-184, 2004.

4. 柳原行義:

IgE産生の分子調節機構. 日本内科学雑誌 93, 2649-2655, 2004.

5. 梶原景一、森嶋大貴、柳原行義: BlySと免疫グロブリンのクラススイッチ. 臨床免疫 41, 643-648, 2004.

6. 柳原行義:

IgE産生とアレルギー性炎症. 喘息 17, 2-6, 2004.

7. 梶原景一、柳原行義:

IgE産生のメカニズム。  
喘息 17, 21-25, 2004.

8. 柳原行義:

IgE抗体産生の調節。

総合アレルギー学 pp.81-87, 2004.

9. 梶原景一、羅 智靖、柳原行義:

可溶性FcεRIαと抗IgE抗体のIgE産生抑制機序。  
臨床免疫 41, 219-222, 2004.

10. 柳原行義:

アレルギーと感染- hygiene hypothesisを含めて。

小児アレルギー学会誌 18, 14-18, 2004.

#### 学会発表

1. 釣木澤尚実、柳原行義、梶原景一、粒来崇博、西山晃好、豊田信明、森田園子、谷口正実、秋山一男。 家族内発症を呈したChurg-Strauss syndrome の2症例。第16回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2004.

2. 山田一恵、中島陽一、河村牧子、各務美智子、松山温子、徳田玲子、近藤康人、柘植郁哉、宇理須厚雄、木村 守、柳原行義。 加熱脱オボムコイド卵白による経口減感作療法成功例の末梢血単核球からのTh1, Th2サイトカイン産生能の検討。第16回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2004.

3. 柳原行義。 IgEの産生調節機構。第54回日本アレルギー学会総会, 2004.

4. 森嶋大貴、梶原景一、品澤美樹、稲葉奈緒美、大路バク、生澤公一、秋山一男、柳原行義。 成熟B細胞におけるRAG発現とその機能解析。第54回日本アレルギー学会総会, 2004.

5. 梶原景一、品澤美樹、森嶋大貴、生澤公一、

稲葉奈緒美、大路バク、谷口正実、秋山一男、柳原行義。 APRILによるIgEクラススイッチの誘導(1) 樹状細胞を用いた検討。第54回日本アレルギー学会総会, 2004.

6. 梶原景一、品澤美樹、森嶋大貴、生澤公一、稲葉奈緒美、大路バク、谷口正実、秋山一男、柳原行義。 APRILによるIgEクラススイッチの誘導(2) 可溶性APRILを用いた検討。第54回日本アレルギー学会総会, 2004.

7. 山田一恵、中島陽一、河村牧子、松山温子、各務美智子、徳田玲子、近藤康人、柘植郁哉、宇理須厚雄、木村 守、柳原行義、鳥居新平。 加熱脱オボムコイド卵白を用いた経口減感作療法による末梢血単核球のIL-4・INF-γ産生能への影響 第41回日本小児アレルギー学会, 2004.

8. 田中剛、金地佐知子、有馬和彦、合田千穂、安永晋一郎、生澤公一、柳原行義、久保允人、杉田雄二、出原賢治。 IL-4によるB細胞におけるaryl hydrocarbon receptorの誘導 第34回日本免疫学会総会・学術集会, 2004.

9. 柳原行義。 感染とIgE産生。第13回小児臨床薬理・アレルギー・免疫研究会, 2005.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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）

分担研究報告書

アレルギー疾患の遺伝的要因と環境要因の相互作用に関する研究

アレルギー発症における遺伝と環境 - 衛生仮説の分子生物学的検証-

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

研究協力者 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  
青木美奈子 岐阜大学医学部附属病院小児科助手  
川本典生 岐阜大学大学院医学研究科小児病態学医員  
金子英雄 岐阜大学医学部附属病院小児科講師  
深尾敏幸 岐阜大学大学院医学研究科小児病態学助教授

**研究要旨** アレルギー疾患は、遺伝的要因と環境要因が絡み合って発症する。この解明のために、環境要因が生体の分子、遺伝子に直接的にどのように影響を及ぼすかを明らかにすることは極めて重要である。本研究では、衛生仮説を生体（遺伝）- 環境の相互関係の視点から分子生物学的に検証する。自然免疫系と獲得免疫系とその相互の関係において、今回、感染刺激の1つとしてLPS刺激から検討した。その結果、コントロールに比してアレルギー児では調節性サイトカインの発達が良好でなく、従ってそれらの調節を受けるTh1・Th2バランスの発達が良好でなく、抗原刺激によってアンバランスをきたし易いことが示された。その結果、アレルギー発症に向かうと考えられた。現在、刺激侵入部位であるToll like receptor遺伝子についても検討している。

**A. 研究目的**

アレルギー疾患は、遺伝的要因と環境要因が絡み合って発症する。この解明のために、環境要因が生体の分子、遺伝子に直接的にどのように影響を及ぼすかを明らかにすることは極めて重要である。環境要因のうち、ウイルスや細菌の感染が喘息をはじめとするアレルギー疾患に対して、発症誘導に働くことも、何ら影響を与えないことも、さらには発症予防に働くこともある。衛生仮説は、感染が発症予防に関わっていることを示唆している。すなわち、感染症の頻度の減少と共にアレルギー疾患・自己免疫疾患の発症頻度が上昇している事実から提出された考えである。本研究では、衛生仮説を生体（遺伝）- 環境の相互関係の視点から分子生物学的に検証する。

**B. 研究方法**

自然免疫系と獲得免疫系とこれらの相互の関係を分子生物学的に検索した。種々の年齢層の非アレルギー児（コントロール）とアレルギー児を対象にした。すなわち、細菌成分でエンドトキシンであるリポポリサッカライド（LPS）の刺激による末梢血単核球分画からのIL-10、TGF- $\beta$ など調節性サイトカインの産生、調節性T細胞と考えられているCD4CD25陽性細胞の検討、抗原等刺激によるTh1・Th2サイトカインの産生測定に

よるTh1・Th2アンバランスの検証、IL-10などのTh1・Th2サイトカイン産生への関与などを検討した。（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) LPS 刺激による IL-10 の産生は、コントロールに比してアレルギー児で有意に低下していた(図1)。アレルギー児の中でも、2 歳以上ではその産生はさらに低下しており、コントロール児と比較してアレルギー児では、調節性サイトカインである IL-10 の産生への発達が良好でないことが示された(図2)。(2) FACSによるTh1・Th2サイトカイン検出によるTh1・Th2比の年齢による発達については、コントロールではTh1が年齢と共に発達しているのに対し、アレルギー児ではこの発達は著しく分散しており、発達不十分な症例が目立った。(3) IL-10のTh1・Th2サイトカイン産生への関与については、刺激末梢血単核球とT細胞クローンを使用して検討した結果、IL-10は過剰に産生されるTh1

(2)・Th2 のサイトカインの両方の産生を制御することが示された (図3) (図4)。

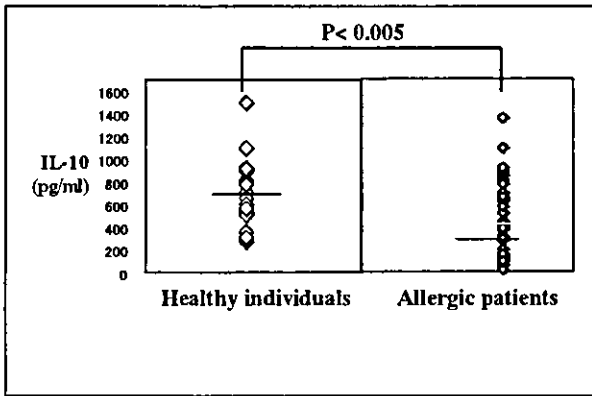


図1 IL-10 production from PBMCs stimulated with LPS on healthy individuals and allergic patients

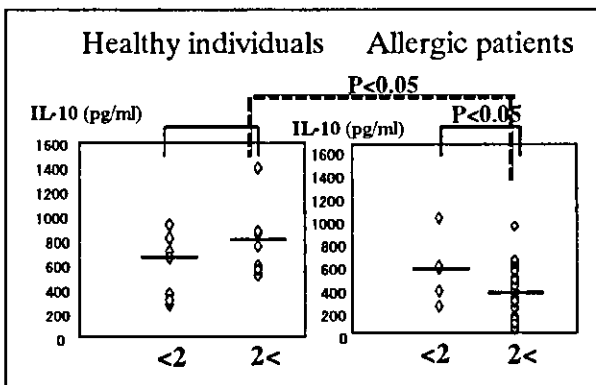


図2 Comparison of IL-10 production from LPS-stimulated PBMCs, on less than 2 years old and more than 2 years old

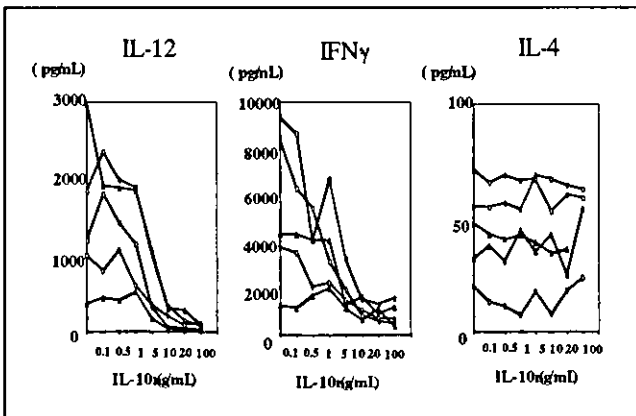


図3 Effects of IL-10 on IL-12, IFN- $\gamma$  and IL-4 production of PHA stimulated peripheral blood mononuclear cells

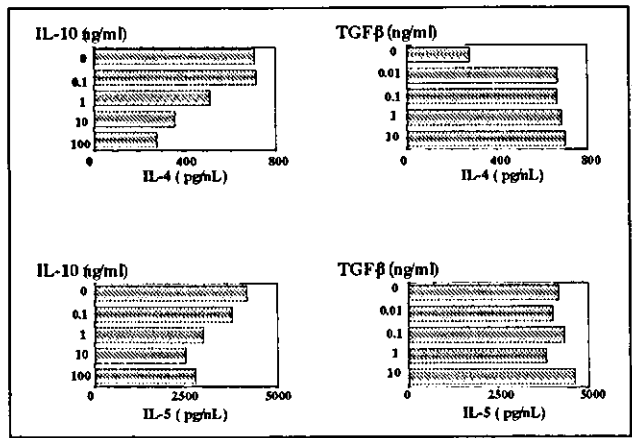


図4 Effects of IL-10 or TGF- $\beta$  on IL-4 and IL-5 production of  $\beta$ -lactoglobulin specific T cell clone.

#### D. 考察および結論

自然免疫系と獲得免疫系とその相互の関係において、今回、感染刺激の1つとしてLPS刺激から検討した。その結果、コントロールに比してアレルギー児では調節性サイトカインの発達が良好でなく、従ってそれらの調節を受けるTh1・Th2バランスの発達が良好でなく、抗原刺激によってアンバランスをきたし易いことが示された。その結果、アレルギー発症に向かうと考えられた。現在、刺激侵入部位であるToll like receptor 遺伝子についても検討している。

#### 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. Allergy 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.  
 Allergy 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. Allergy International (in press)

<学会発表>

- 1、Kondo N : 国際学会シンポジウム : Main Symposium 1 : Molecular Explanation of Hygiene Hypothesis(衛生仮説). The 6<sup>th</sup> Asia Pacific Congress of Allergy and Clinical Immunology (2004年10月4日, 東京)
- 2、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)
- 3、松井永子、金子英雄、深尾敏幸、加藤善一郎、寺本貴英、長尾みづほ、青木美奈子、吉川かおり、館林宏治、近藤直実 : シンポジウム2 : アレルギーにおけるゲノム解析と診断への応用- 小児を中心に - . 日本アレルギー学会春季臨床大会 (第16回) (2004年5月12日, 群馬)
- 4、近藤直実 : 小児気管支喘息の病態と治療- 現状と将来- : セッションIII 将来展望 : 遺伝からみた発症予知予防 小児気道アレルギー研究会 (第11回) (2004年10月24日, 宮崎)
- 5、加藤善一郎、大西秀典、李愛蓮、山本裕、面家健太郎、松隈英治、近藤應、深尾敏幸、近藤直実 : シンポジウム5 : アレルギーにおけるプロテオミクス解析. 日本アレルギー学会総会 (第54回) (2004年11月5日, 横浜)

**F. 知的財産権の出願・登録状況**

特許取得

特になし

実用新案登録

特になし

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）

分担研究報告書

アレルギー疾患の遺伝要因と環境要因の相互作用に関する研究

- アレルギー疾患発症に関与するIL-18遺伝子と環境要因としてのフラボノイド-

分担研究者 田中敏郎 大阪大学大学院医学系研究科分子病態内科学講座講師

研究協力者 比嘉慎二、平野亨、有光潤介（大阪大学大学院医学系研究科分子病態内科学）

**研究要旨** アレルギー疾患は、アトピー素因などの遺伝要因と環境要因が相互作用することで発症するものと考えられている。遺伝要因として、IL-18構造遺伝子の多型IL-18-105A/Cが喘息の発症と連鎖することを示した。この多型がどのような機序で喘息の発症に関与するのか、遺伝子多型とIL-18産生能の関与を検討した。精製単球からのPMA+A23187刺激によるIL-18産生能は、遺伝子多型105A/Aの場合A/Cに比較して増加する傾向が認められた。また、IL-12p40-1188A/Cは、非アトピー型喘息では、対照やアトピー型喘息と比べて遺伝子頻度の差を認めた。以上の事は、IL-18とIL-12の遺伝子多型からは、IL-18が過剰に産生する遺伝子背景があれば、喘息発症のリスクが高まり、IL-12が過剰に産生しうる遺伝子多型が加われば非アトピー型喘息発症のリスクが高まることを示唆する。環境要因として、食品に含まれるフラボノイドが抗アレルギー作用（好塩基球からのヒスタミン、IL-4、IL-13産生抑制）を有することを報告したが、さらに活性の強い低分子化合物を探索した。Ayanin等数種類の化合物がluteolinと同様な活性( $IC_{50}=2.2-6.5$ ) $\mu$ Mで好塩基球からのIL-4の産生を抑制することが明らかとなり、その抑制活性に必要なフラボノイドの基本骨格が明らかとなった。また、食品のフラボノイド含有量のデータベースを踏まえて、アレルギーに対する食事メニューを考案したが、今後真に有効なのか検証していく必要がある。

**A. 研究目的**

アレルギー疾患の遺伝要因として、IL-18-105A/C遺伝子多型が、喘息発症に関与することを報告した(OR=1.83)が、この多型が、どのような機序で喘息の発症に関与するのか、これを明らかとすることを目的とした。また、環境要因としてdietに注目し、これまでフラボノイドのin vitroや動物モデルでのin vivoの抗アレルギー作用や効果を示してきたが、フラボノイドの適切な摂取が、補完代替療法や予防法につながるのか、さらに検討を加えた。

**B. 研究方法**

1. 遺伝子の多型性の解析 遺伝子解析は、倫理委員会で承認後、インフォームドコンセントにて協力が得られたアレルギー患者さん末梢血よりDNAを抽出した。遺伝子多型は、PCR-RFLPに解析した。
2. Buffy coatより正常好塩基球を精製後、抗IgE抗体とIL-3で刺激時の、フラボノイド及びその類似構造を有する低分子化合物のIL-4産生に対する抑制効果をELISA法にて検討した。
3. 末梢血より単球を精製し、PMAとA23187の刺激によるIL-18産生をELISA法にて測定した。  
(倫理面への配慮)

大阪大学研究倫理審査委員会での承認後、本研究を

遂行するにあたり、対象とする患者及び対照から提供される検体には担当医師から研究の必要性及び有用性を十分に説明した後、同意が得られた場合のみ、検体を提供していただき、解析を行った。同意が得られなかった患者さんが不利益を被らないこととした。

**C. 研究結果**

1. 単球からのPMA+A23187刺激によるIL-18産生能は、IL-18遺伝子多型A/Aの場合、A/Cに比較して増加する傾向が認められた。
2. IL-18-105A/Cは、アトピー型喘息より非アトピー型喘息での連鎖が強い。IL-12p40-1188A/Cは、非アトピー型喘息で、対照やアトピー型と比べ、遺伝子頻度の差が認められた。
3. 好塩基球からの抗IgE抗体+IL-3刺激にて誘導されるIL-4産生に対する、フラボノイド及びその分子修飾低分子化合物の抑制活性は、ayanin、luteolin、apigenin、compound 31、diometin、fisetin、omubuin、compound 5に強い抑制活性があり( $IC_{50}=2.2-6.5 \cdot M$ )、基本骨格の3、5、7、3'、4'のOHが活性に重要であることが明らかとなった。
4. アメリカで作成された食品中のフラボノイド含有

量のデータベースと大阪での主要食品のデータベース（大阪教育大学との共同研究）を踏まえて、アレルギーに対する食事メニューを考案した。またフラボノイド摂取量推定のための簡易食事調査票を作成中にある。

#### D. 考察

最近動物モデルでは、メモリーTh1細胞に抗原と同時にIL-18が作用すると、IL-13などのTh2サイトカインが産生誘導され、アレルギー炎症や気道過敏性が亢進することが示された。IL-18とIL-12の遺伝子多型の解析からは、IL-18が過剰に産生される遺伝子背景があれば、喘息発症のリスクが高まり、IL-12が過剰産生される遺伝子多型が加われば、非アトピー型喘息のリスクがさらに高まること、またTh1細胞が非アトピー型喘息発症に関与する可能性を示唆する。

最近フラボノイド高摂取群では、喘息発症が少なかったというコーホート研究の結果が報告された。また現在までの解析で、フラボノイドの抗アレルギー活性（好塩基球や肥満細胞からのサイトカインやヒスタミン分泌抑制）、その作用機序、動物モデルでの臨床効果、in vitroの抑制活性のヒエラルキーが明らかとなった。食品のフラボノイド含有量のデータベースを踏まえて、食事メニューを考案したが、フラボノイドの適切な摂取が、真にアレルギー疾患の補完代替療法や予防法につながるのか今後の検証が必要である。

#### E. 結論

1. IL-18の過剰産生に関与する遺伝子多型は、喘息発症のリスクを高める。
2. 好塩基球や肥満細胞からのヒスタミンやTh2サイトカインの産生を抑制するフラボノイドの適切な摂取が、アレルギー疾患の補完代替療法や予防に期待される。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Hirano T., S. Higa, J. Arimitsu, T. Naka, Y. Shima, S. Ohshima, M. Fujimoto, T. Yamadori, I. Kawase, and T. Tanaka. 2004. Flavonoids such as luteolin, fisetin and apigenin are inhibitors of interleukin-4 and interleukin-13 production by activated

human basophils. *Int Arch Allergy Immunol* 134:135-140.

2. Iwashige K., K. Kouda, M. Kouda, K. Horiuchi, M. Takahashi, A. Nagano, T. Tanaka, and H. Takeuchi. 2004. Calorie restricted diet and urinary pentosidine in patients with rheumatoid arthritis. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 23:19-24.
3. Tanaka T., S. Higa, T. Hirano, J. Arimitsu, T. Naka, Y. Shima, S. Ohshima, M. Fujimoto, T. Yamadori, and I. Kawase. 2004. Is an appropriate intake of flavonoids a prophylactic means or complementary and alternative medicine for allergic diseases? *Recent Res Devel Allergy & Clin Immunol* 5:1-14.
4. Watanabe D., S. Ezoe, M. Fujimoto, A. Kimura, Y. Saito, H. Nagai, I. Tachibana, I. Matsumura, T. Tanaka, H. Kanegane, T. Miyawaki, M. Emi, Y. Kanakura, I. Kawase, T. Naka and T. Kishimoto. 2004. Suppressor of cytokine signalling-1 gene silencing in acute myeloid leukaemia and human haematopoietic cell lines. *Br J Haematol* 126:726-735.
5. Jiang M., H. Tsukahara, Y. Ohshima, C. Zou, N. Ohta, S. Sato, Y. Todoroki, M. Hiraoka, M. Nambu, T. Tanaka, E. Yamaguchi, N. Kondo and M. Mayumi. 2004. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in patients with bronchial asthma. *Intern Med J* 11:119-123.
6. Inaba M., H. Saito, M. Fujimoto, S. Sumitani, T. Ohkawara, T. Tanaka, H. Kouhara, S. Kasayama, I. Kawase, T. Kishimoto, and T. Naka. 2005. Suppressor of cytokine signaling 1 suppresses muscle differentiation through modulation of IGF-1 receptor signal transduction. *Biochem Biophys Res Commun* 328:953-961.
7. Shima Y., M. Iwano, K. Yoshizaki, T. Tanaka, I. Kawase and N. Nishimoto. 2005 All-trans retinoic acid inhibits the development of mesangial proliferative glomerulonephritis in interleukin-6 transgenic mice. *Nephron*



in press.

8. 富田益臣、目黒周、木保敦子、細川和広、  
渥美義仁、嶋良仁、山鳥大材、大島至郎、  
田中敏郎 腫瘍摘出後血糖コントロール  
が改善したIL-6産生悪性腹膜中皮腫の  
1例 Diabetes Frontier 15; 699-706、2004.

## 2. 学会発表

1. 藤田きみえ、宮武明彦、藤田麻里、中野直子、  
長坂行雄、渡邊大、田中敏郎 ハムスター飼育  
経験のある気管支喘息患者の検討 第16回日  
本アレルギー学会春期臨床大会 2004, 5, 前橋
2. 藤田きみえ、宮武明彦、藤田麻里、中野直子、  
長坂行雄、渡邊大、田中敏郎 ハムスター飼育  
経験のある気管支喘息患者の臨床経過 (第2

報) 第54回日本アレルギー学会総会 2004,  
11, 横浜

3. 平野亨、有光潤介、比嘉慎二、田中敏郎、川瀬  
一郎 ルテオリン、フィセチン、エピゲニンな  
どのフラボノイドは活性化好塩基球からのIL-4,  
IL-13産生を抑制する 第54回日本アレルギー  
学会総会 2004, 11, 横浜
4. 山鳥大材、嶋良人、田中敏郎 抗Jo-1抗体関連  
関節炎の3例 第54回日本アレルギー学会総  
会 2004, 11, 横浜

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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）

分担研究報告書

アレルギー疾患の遺伝要因と環境要因の相互作用に関する研究

- 経口的なTGF-βの摂取がアレルギー応答に及ぼす作用についての解析-

分担研究者 中尾篤人 山梨大学大学院医学工学総合研究部免疫学講座教授

研究協力者 岡本篤司（山梨大学大学院医学工学総合研究部耳鼻咽喉科学講座）

研究要旨：疫学的ならびに臨床的な研究から母親の母乳中に多量に含まれるサイトカインの1つであるTransforming growth factor-β (TGF-β)が乳幼児のアレルギー疾患の発症を抑制する可能性が示唆されている。しかしながら経口的に摂取されたTGF-βの免疫系に及ぼす影響については実験的にほとんど検証されていない。そこで経口的に投与したTGF-βの全身免疫系に及ぼす作用についてアレルギー性疾患の動物モデルを用いて検討した。その結果、TGF-βの経口投与によって、食物アレルギーモデルマウスにおける経口抗原に対するTh2タイプの免疫応答が抑制され、Th1タイプの免疫応答が増強されること、アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける皮膚炎ならびに血清IgE値が抑制されることが見いだされた。本知見は、経口的にTGF-βを摂取することが、アレルギー性疾患の予防や治療につながる可能性を示唆するものである。

**A. 研究目的**

疫学的ならびに臨床的な研究から母親の母乳中に多量に含まれるサイトカインの1つであるTransforming growth factor-β (TGF-β)が乳幼児のアレルギー疾患の発症を抑制する可能性が示唆されている。しかしながら、経口的に摂取されたTGF-βの免疫系に及ぼす影響については実験的にほとんど解明されていない。そこで我々はTGF-βの経口投与がアレルギー応答に及ぼす作用についてマウス食物アレルギーモデル、アトピー性皮膚炎モデルを用いて解析した。

**B. 方法**

高用量の卵白アルブミン(OVA)をOVA特異的T細胞受容体トランスジェニックマウス(D011.10)に反復的に経口投与するとOVA特異的血中IgE産生が観察され、このマウスにOVAを静注するとアナフィラキシーショックが誘導される（食物アレルギーモデル）(A)。NC/Ngaマウスは生後5週頃から自然にヒトアトピー性皮膚炎に類似した病変を形成し、血中IgE値の上昇を認める。（アトピー性皮膚炎モデル）(B)。以上のアレルギーモデルにおいて経口的にTGF-βを投与しその効果を検討した。

**C. 研究結果**

経口的にTGF-βとOVAとを同時に投与すると(A)におけるOVA特異的血中IgE産生、アナフィラキシーショックの誘発が抑制された。また、経口的TGF-βの単独投

与は(B)における皮膚炎の形成、血中IgE値の上昇を抑制した。

**D. E. 考察および結論**

経口的に摂取されたTGF-βは、全身免疫応答に対し影響を与え、とりわけアレルギー反応に関与するTh2タイプの免疫応答を負に制御する可能性が示唆された。母乳中に含まれるTGF-βの作用を本結果は一部説明できるかもしれない。

**F. 健康危険情報**

特になし

**G. 研究発表**

1. Kanamaru Y, Sumiyoshi K, Ushio H, Ogawa H, Okumura K, **Nakao A**: Smad3 deficiency in mast cells provides efficient host protection against acute septic peritonitis. J Immunol (in press)
2. Okamoto A, Kawamura T, Kanbe K, Kanamaru Y, Ogawa H, Okumura K, **Nakao A**: Suppression of serum IgE response and systemic anaphylaxis in a food allergy model by orally administered high-dose TGF-β. Int Immunol (in press)
3. Hasegawa T, **Nakao A**, Sumiyoshi K,

- Tsuchihashi H, Ogawa H: SB-431542 inhibits TGF- $\beta$ -induced contraction of collagen gel by normal and keloid fibroblasts.  
J Dermatol Sci (in press)
4. Inazaki K, Kanamaru Y, Kojima Y, Sueyoshi N, Okumura K, Kaneko K, Yamashiro Y, Ogawa H, **Nakao A**:  
Smad3 deficiency attenuates renal fibrosis, inflammation, and apoptosis after unilateral ureteral obstruction.  
Kidney Int 66:597-604, 2004
5. Xu H, Okamoto A, Ichikawa J, Ando T, Tasaka K, Masuyama K, Ogawa H, Yagita H, Okumura K, **Nakao A**:  
TWEAK/Fn14 interaction stimulates human bronchial epithelial cells to produce IL-8 and GM-CSF.  
Biochem Biophys Res Commun 318:422-427, 2004
- H. 知的財産権の出願登録状況  
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
出原賢治、有馬和彦	IL-13	笠倉新平、松島綱治	サイトカイン・ケモカインのすべてー基礎から最新情報までー	日本医学館	東京	2004	212-220
出原賢治	IL-4/IL-13誘導遺伝子とアレルギー疾患発症との関連	中島重徳、小林節雄、宮本昭正	喘息と関連遺伝子	ライフサイエンス出版	東京	2004	67-71
有馬和彦、金地佐千子、金地泰典、出原賢治	免疫沈降法	中内啓光	すべてのバイオ研究に役立つ免疫学的プロトコール	羊土社	東京	2004	106-112
金地佐千子、有馬和彦、金地泰典、出原賢治	ウェスタンブロットティング法	中内啓光	すべてのバイオ研究に役立つ免疫学的プロトコール	羊土社	東京	2004	113-119
広田朝光、赤星光輝、松田彰、高橋尚美、清水麻貴子、小久保美紀、関口寛史、中島加珠子、程雷、小原和彦、玉利真由美、岸文雄、白川太郎	喘息ゲノミクス	辻本豪三 田中利男 金久賢	実験医学別冊：ゲノム研究実験ハンドブック	羊土社	東京	2004	290-296
柳原行義	IgE抗体産生の調節	福田健	総合アレルギー学	南山堂	東京	2004	81-87
近藤直実	小児の気管支喘息	山口徹 北原光夫	今日の治療指針	医学書院	東京	2004	943-946
近藤直実 金子英雄	ADAM33ー喘息感受性遺伝子	工藤翔二 土屋了介 金沢実 大田健	Annual Review 2004 呼吸器	中外医学社	東京	2004	78-81
近藤直実	アレルギー性疾患の検査法 IV 型アレルギーの検査法	福田健	総合アレルギー学	南山堂	東京	2004	191-195
金子英雄 深尾敏幸 近藤直実	免疫グロブリンサブクラス欠損症モデルマウス	秦順一	ヒト患者モデル	文光堂	東京	2004	45-51

近藤直実	吸入ステロイド薬と他の抗喘息薬とのコンビネーションと問題	西間三馨	小児気管喘息のマネジメント- 吸入ステロイド薬の使い方-	医薬ジャーナル社	大阪	2004	54-62
------	------------------------------	------	------------------------------	----------	----	------	-------

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Izuhara K, Arima K.	Signal transduction of IL-13 and its role in the pathogenesis of bronchial asthma.	Drug News & Perspect	17(2)	91-98	2004
Izuhara K, Arima K, Yuyama N, Sakata Y, Masumoto K	Application of functional genomics to bronchial asthma.	Curr Pharmacogenomics	2	351-356	2004
Sakata Y, Arima K, Takeshita K, Takai T, Aoki S, Ogawa H, Sugihara H, Fujimoto K, <u>Izuhara K</u>	Characterization of novel squamous cell carcinoma antigen-related molecules in mice.	Biochem Bioph Res Commun	324	1340-1345	2004
Sakata Y, Arima K, Takai T, Sakurai W, Masumoto K, Yuyama N, Suminami Y, Kishi F, Yamashita T, Kato T, Ogawa H, Fujimoto K, Matsuo Y, Sugita Y, <u>Izuhara K.</u>	The squamous cell carcinoma antigen 2 inhibits the cysteine proteinase activity of a major mite allergen, Der p 1.	J Biol Chem	279(7)	5081-5087	2004
Kuzuya Y, Adachi T, Hara H, Anan A, <u>Izuhara K</u> , Nagai H	Induction of drug-metabolizing enzymes and transporters in human bronchial epithelial cells by beclomethasone dipropionate.	IUBMB Life	56(6)	355-359	2004
Seki N, Suzuki W, Miyazaki M, Seki Y, Hayashi K, Arima K, <u>Izuhara K</u> , Brombacher F, Kubo M	Role of the IL-4-induced GATA-3 expression as a time-dependent instruction switch on cytokine expression in helper T cell differentiation.	J Immunol	172	6158-6166	2004
Kanaji T, Russell S, Cunningham J, <u>Izuhara K</u> , Fox JE, Ware J	Megakaryocyte proliferation and ploidy regulated by the cytoplasmic tail of glycoprotein Ib $\alpha$ .	Blood	104	3161-3168	2004

Takai T, Kato T, Sakata Y, Yasueda H, <u>Izuhara K</u> , Okumura K, Ogawa H.	Recombinant Der p 1 and Der f 1 exhibit cysteine protease activity but no serine protease activity.	Biochem Biophys Res Commun	328(4)	944-952.	2005
<u>Izuhara K</u> , Arima K, Masumoto K, Kanaji S, Kanaji T	IL-4 and IL-13: Their pathological roles in allergic diseases and their potential in developing new therapies-Update.	Med Chem Rev-online		in press	2005
Arima K, <u>Izuhara K</u>	The IL-13/IL-13 receptor interaction, an emerging therapeutic target in allergic diseases.	Allergology Int		in press	2005
Nishi N, Miyazaki M, Tsuji K, Hitomi T, Muro E, Zaitsum M, Yamamoto S, Inada S, Kobayashi I, Ichimaru T, <u>Izuhara K</u> , Nagumo F, Yuyama N, Hamasaki Y	Squamous cell carcinoma-related antigen (SCCA) in children with acute asthma.	Ann Allergy Asthma Immunol		in press	2005
Kamada F, Suzuki Y, Shao C, Tamari M, Hasegawa K, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Chiba Y, Aoki Y, Kure S, Taamura G, <u>Shirakawa T</u> , Matsubara Y	Association of the hCLCA1 gene with childhood and adult asthma	Genes Immun	7	540-547	2004
Hasegawa K, Tamari M, Shao C, Shimizu M, Takahashi N, Mao XQ, Yamasaki A, Kamada F, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Tamura G, Matsubara Y, <u>Shirakawa T</u> , Suzuki Y	Variations in the C3, C3a receptor, and C5 genes affect susceptibility to bronchial asthma.	Hum Genet	115	295-301	2004
Cheng L, Enomoto T, Hirota T, Shimizu M, Takahashi N, Akahoshi M, Matsuda A, Dake Y, Doi S, Enomoto K, Yamasaki A, Fukuda S, Mao XQ, Hopkin JM, Tamari M, <u>Shirakawa T</u>	Polymorphisms in ADAM33 are associated with allergic rhinitis due to Japanese cedar pollen.	Clin Exp Allergy	34	1192-1201	2004

Hirota T, Obara K, Matsuda A, Akahoshi M, Nakashima K, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Kishi F, Suzuki Y, Saito H, Nakamura Y, Shirakawa T, Tamari M	Association between genetic variation in the gene for death-associated protein-3 (DAP3) and adult asthma.	J Hum Genet	49	370-375	2004
Shao C, Suzuki Y, Kamada F, Kanno K, Tamari M, Hasegawa K, Aoki Y, Kure S, Yang X, Endo H, Takayanagi R, Nakazawa C, Morikawa T, Morikawa M, Miyabayashi S, Chiba Y, Karahashi M, Saito S, Tamura G, Shirakawa T, Matsubara Y	Linkage and association of childhood asthma with the chromosome 12 genes.	J Hum Genet	49	115-122	2004
Nakajima T, Iikura M, Okayama I, Matsumoto K, Uchiyama C, Shirakawa T, Yang X, Adra CN, Hirai K, Saito H.	Identification of granulocyte subtype-selective receptors and channels by high-density oligonucleotide probe array.	J Allergy Clin Immunol	113(3)	528-535	2004
Peisong G, Mao X-Q, Enomoto T, Feng Z, Gloria-Bottini F, Bottini E, Shirakawa T, Sin D, Hopkin JM.	An asthma-associated genetic variant of STAT6 predicts low burden of ascaris worm infestation.	Genes Immunity	5	58-62	2004
Fukuda S, Ishikawa H, Koga Y, Yaiba Y, Nakashima K, Cheng L, Shirakawa T.	Allergic symptoms and microflora in schoolchildren.	J Adoles Health	35(2)	156-158	2004
Tanaka K, Roberts MH, Yamamoto N, Sugiura H, Uehara M, Mao X-Q, Shirakawa T, Hopkin JM.	Heterogeneity of atopic eczema; a genetic variant of RANTES and high IgE level.	Clin Exp Allergy		in press	2005
Hasegawa K, Hirota T, Obara K, Akahoshi M, Cheng L, Takahashi Shimizu M, Sekiguchi H, Kokubo M, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Mao X-Q, Tamari M, Shirakawa T.	Association between genetic variation in the gene for ADAM33 and clinical severity of childhood asthma in the Japanese population.	Hum Genet		in press	2005

Akahoshi M, Obara K, Hirota T, Matsuda A, Hasegawa K, Takahashi N, Shimizu M, Nakashima K, Doi S, Fujiwara H, Miyatake A, Fujita K, Higashi N, Taniguchi M, Enomoto T, Mao XQ, Nakashima H, N. Adra CN, Nakamura Y, Tamari M, Shirakawa T	A functional promoter polymorphism in the <i>TBX21</i> gene is associated with aspirin-induced asthma	Hum Genet		in press	2005
Fujii-Maeda S, Kajiwara K, Ikizawa K, Shinazawa M, Yu B, Koga T, Furue M, Yanagihara Y	Reciprocal regulation of thymus and activation-regulated chemokine/macrophage-derived chemokine production by interleukin (IL)-4/IL-13 and interferon- $\gamma$ in HaCaT keratinocytes is mediated by alternations in E-cadherin distribution.	J Invest Dermatol	122	20-28	2004
Kajiwara K, Shinazawa M, Morishima H, Yanagihara Y	Differential effect of IL-4 and IL-13 on the expression of recombination-activating genes in mature B cells from human peripheral blood.	Cell Immunol	227	121-128	2004
Yanagihara Y.	Regulation of IgE synthesis : From past to present .	Allergy: An expanding challenge in the 21 <sup>st</sup> century		57-60	2005
Kaneko H, Fukao T, Kondo N	The function of RecQ helicase gene family (especially BLM) in DNA recombination and joining	Adv Biophys	38	45-64	2004
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



Kondo N, Matsui E, Kaneko H, Kato Z, Teramoto T, Shikano H, Aoki M, Onishi 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
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
Asano T, Kaneko H, Terada T, Kasahara Y, Fukao 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	284-290	2004
Nagase T, Shimozawa N, Takemoto Y, Suzuki Y, Komori M, Kondo N	Peroxisomal localization in the developing mouse cerebellum : Implications for neuronal abnormalities related to deficiencies in peroxisomes	Biochimica et Biophysica Acta	1671	26-33	2004
Fukao T, Matsuo N, Zhang G. X, Sakaguchi N, Kohno Y, Kondo N.	Mitochondrial acetoacetyl-CoA tholase (T2, methylaceto-acetyl-CoA) a defect in amino acid and ketone body metabolism	"Symposia Proceedings" of the Pediatric Metabolic Symposium 2002			2004
Shimozawa N, Tsukamoto T, Nagase T, Takemoto Y, Koyama N, Suzuki Y, Komori M, Osumi T, Jeannette, G, Wanders RJ, Kondo N.	Identification of a New Complementation Group of the Peroxisome Biogenesis Disorders and <i>PEX14</i> as the Mutated Gene	Hum Mutat	23	552-558	2004
Fukao T, Chen P, Ren J, Kaneko H, Zhang G.X, Kondo M, Yamamoto K, Furuichi T, Takeda S, Kondo N, Lavin M.F	Disruption of the BLM gene in ATM - null DT40 cells does not exacerbate either phenotype	Oncogene	23	1498-1506	2004
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
Kaneko H, Kondo N	Clinical features of Bloom syndrome and function of the causative gene, BLM helicase	Expert Rev Mol Diagn	4	393-401	2004

Omoya K, Kato Z, Kato Z, Matsukuma E, Li A, Hasimoto 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
Kaneko H, Isogai K, Fukao T, Matsui E, Kasahara K, Yachie A, Seki H, Koizumi S, Arai M, Utunomiya J, Miki Y, Kondo N.	Relatively common mutations of the Bloom syndrome gene in the Japanese population	Int J Mol Med	14	439-442	2004
Nagao-Watanabe M, Fukao T, Matsui E, Kaneko H, Inoue R, Kawamoto N, Kasahara K, Nagai M, Ichiki Y, Kitajima Y, Kondo N	Identification of somatic and germline mosaicism for a keratin 5 mutation in epidermolysis bullosa simplex in a family of which the proband was previously regarded as a sporadic case	Clin Genet	66	236-238	2004
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
Fukao T, Shintaku H, Kusubae R, Zhang GX, Nakamura K, Kondo M, Kondo N	Patients homozygous for the T435N mutation of succinyl-CoA:3-ketoacid CoA Transferase (SCOT) do not show permanent ketosis	Pediatr Res	56	858-863	2004
Zhang G-X, Fukao T, Rolland M-O, Zabot M-T, Renom G, Touma E, Kondo M, Matsuo N, Kondo N	The mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2) deficiency: T2-deficient patients with mild mutation(s) were previously misinterpreted as normal by the coupled assay with tiglyl-CoA	Pediatr Res	56	60-64	2004
Tomatsu S, Filocamo M, Orii KO, Sly WS, Gutierrez MA, Nishioka T, Serrato OP, Di Natale. P, Montano AM, Yamaguchi S, Kondo N, Orii T, Noguchi A	Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A): identification of novel common mutations in the N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase (GALNS) gene in Italian patients	Hum Mutat	24	187-188	2004

Tomatsu S, Orii KO, Bi Y, Gutierrez MA, Nishioka T, Yamaguchi S, <u>Kondo N</u> , Orii T, Noguchi A, Sly WS	General implications for CpG hot spot mutations: methylation patterns of the human iduronate-2-sulfatase gene locus	Hum Mutat	23	590-598	2004
Tomatsu S, Okamura K, Taketani T, Orii KO, Nishioka T, Gutierrez MA, Velez-Castrillon S, Fachel AA, Grubb JH, Cooper A, Thornley M, Wraith E, Barrera LA, Giugliani R, Schwartz IV, Frenking GS, Beck M, Kircher SG, Paschke E, Yamaguchi S, Ullrich K, Isogai K, Suzuki Y, Orii T, <u>Kondo N</u> , Creer M, Noguchi A	Development and testing of new screening method for keratan sulfate in mucopolysaccharidosis IVA	Pediatr Res	55	592-597	2004
Kondo M, Suzuki K, Inoue R, Sakaguchi H, Matsukuma E, Kato Z, Kaneko H, Fukao T, <u>Kondo N</u>	Characterization of T-cell clones specific to ovomucoid from patients with egg-white allergy	J Invest Allergol Clin Immunol		in press	2005
Hashimoto K, Kato Z, Nagase T, Shimozawa N, Kuwata K, Omoya K, Li A, Matsukuma E, Yamamoto Y, Ohnishi H, Tochio H, Shirakawa M, Suzuki Y, Wanders RA, <u>Kondo N</u>	Molecular Mechanism of a Temperature-Sensitive Phenotype in Peroxisomal Biogenesis Disorder	Pediatric research		in press	2005
Kato Z, Okuda M, Okumura Y, Arai T, Teramoto T, Nishimura M, Kaneko H, <u>Kondo N</u>	Oral administration of the thyrotropin-releasing hormone analogue, taltireline hydrate, in spinal muscular atrophy	J Child Neurology		in press	2005
Longo N, Fukao T, Singh R, Pasquali M, Barrios RG, <u>Kondo N</u> , Gibson KM	Succinyl-CoA:3-Keto Acid Transferase (SCOT) Deficiency in a New Patient Homozygous for an R217X mutation	J Inherit Metab Dis		in press	2005

Kursula P, Sikkila H, Fukao T, <u>Kondo N</u> , Wierenga R K	High resolution crystal structures of human cytosolic thiolase (CT). Acomparision of the active sites of human CT, bacterial thiolase, and bacterial KAS	J Mol Biol		in press	2005
Hirano T, Higa S, Arimitsu J, Naka T, Shima Y, Ohshima S, Fujimoto M, Yamadori T, Kawase I, <u>Tanaka T</u>	Flavonoids such as luteolin, fisetin and apigenin are inhibitors of interleukin-4 and interleukin-13 production by activated human basophils	Int Arch Allergy Immunol	134	135-140	2004
Iwashige K, Kouda K, Kouda M, Horiuchi K, Takahashi M, Nagano A, <u>Tanaka T</u> , Takeuchi H	Calorie restricted diet and urinary pentosidine in patients with rheumatoid arthritis	J Physiol Anthropol Appl Human Sci	23	19-24	2004
<u>Tanaka T</u> , Higa S, Hirano T, Arimitsu J, Naka T, Shima Y, Ohshima S, Fujimoto M, Yamadori T, Kawase I	Is an appropriate intake of flavonoids a prophylactic means or complementary and alternative medicine for allergic diseases?	Recent Res Devel Allergy & Clinical Immunol	5	1-14	2004
Watanabe D, Ezoe S, Fujimoto M, Kimura A, Saito Y, Nagai H, Tachibana I, Matsumura I, <u>Tanaka T</u> , Kanegane H, Miyawaki T, Emi M, Kanakura Y, Kawase I, Naka T, Kishimoto T	Suppressor of cytokine signaling-1 gene silencing in acute myeloid leukaemia and human haematopoietic cell lines	Br J Haematol	126	726-735	2004
Jiang M, Tsukahara H, Ohshima Y, Zou C, Ohta N, Sato S, Todoroki Y, Hiraoka M, Nambu M, <u>Tanaka T</u> , Yamaguchi E, Kondo N, Mayumi M	Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in patients with bronchial asthma	Intern Med J	11	119-123	2004
Inaba M, Saito H, Sumitani S, Fujimoto M, Okawara T, <u>Tanaka T</u> , Kouhara H, Kasayama S, Kawase I, Kishimoto T, Naka T	Suppressor of cytokine signaling 1 suppresses muscle differentiation through modulation of IGF-1 receptor signal transduction	Biochem Biophys Res Commun	328	953-961	2005