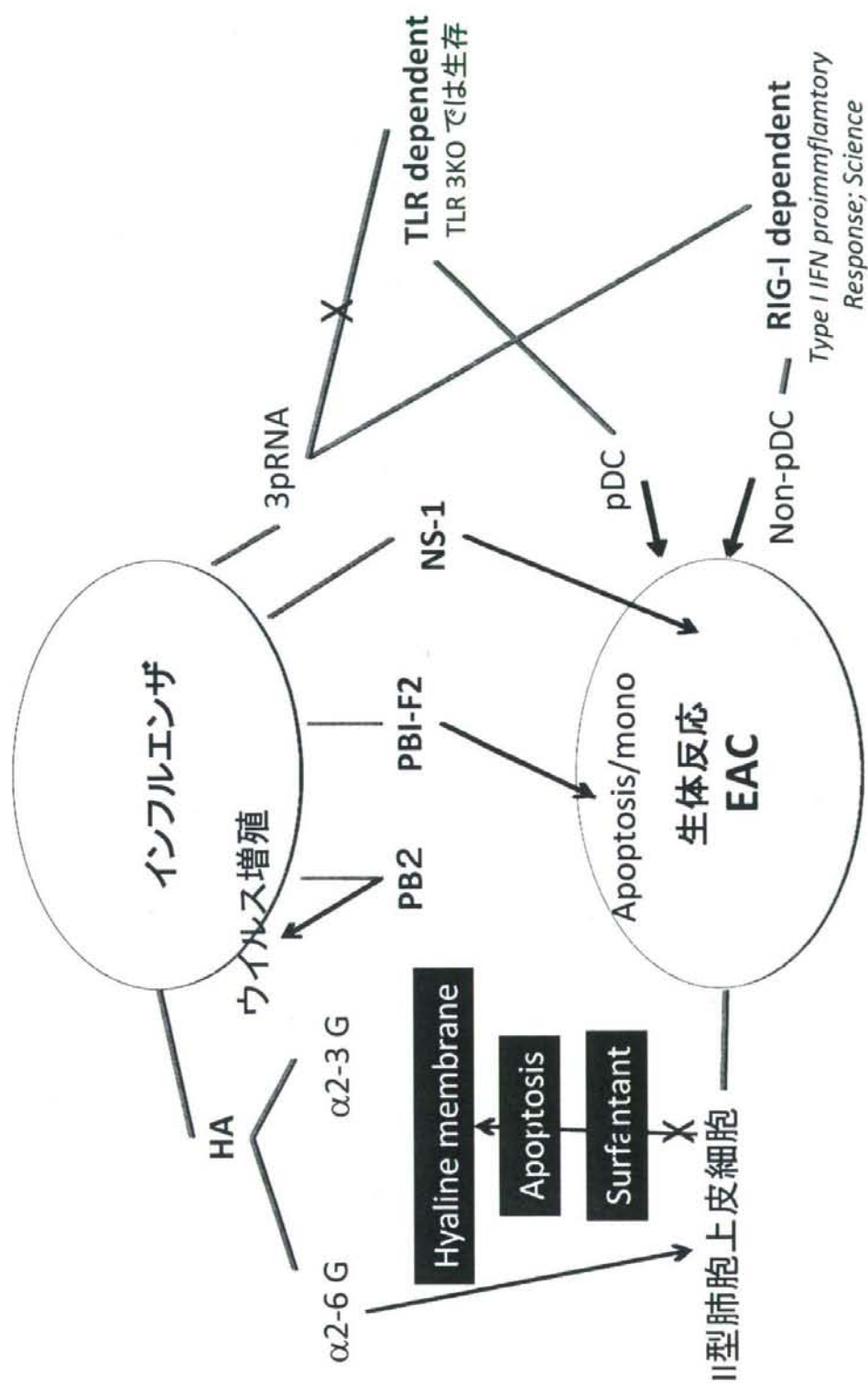


# インフルエンザウイルスと生体反応における病態惹起因子



## 当院救命センターでの ARDS 症例における HFOV の有用性

本間 栄 Sakae Homma / 菊池 直 Naoshi Kikuchi

東邦大学大森病院呼吸器内科：Toho University School of Medicine

### 研究要旨：

インフルエンザ（H5N1）の死因となる劇症型 ARDS に対する臨床的治療として薬物療法はもちろんのこと、それ以外に人工呼吸管理が重要となってくる。

ARDS (DAD) の病態が重症化するほど呼吸器の設定条件も厳しくなり、Ventilator-associated lung injury の合併を含め DAD からの改善に難渋する。ARDS/ALI においては、生存率の改善をエンドポイントとした RCT によって有用性が明らかになっている治療法は低容量換気による呼吸管理法のみである。今回、従来の低容量換気による肺保護戦略の理想と考えられている high-frequency oscillatory ventilation を ARDS 数例に使用し効果が認められたので、症例を呈示すると共に症例数を増やしその有用性を検討する。

### A. 研究目的

唯一生存率の改善をエンドポイントとした RCT で有効性が認められている肺保護換気は現在 ARDS の呼吸器管理の基本となっている。ARDS での Baby lung における Ventilator-associated lung injury (VALI) の発症や、それによる MODS（肺循環を通して、全身性の炎症反応の原因となる）への発展を考えると肺保護換気的重要性が理解できる。急性期を Peak out するまでの戦略として、従来の呼吸管理では酸素化の改善が達成できない場合の肺保護換気法として現在 high-frequency oscillatory ventilation (HFOV) が注目されている。

### B. 研究方法（背景）

当院では今まで数例に HFOV を施行したが、

重症例が多く結果として救命できた症例が少ないのが現状である。しかし今回 HFOV を用いて救命しえた誤嚥性肺炎による ARDS の症例を経験したので呈示する。

### C. 研究結果

症例：49 歳、男性

主訴：意識障害、呼吸困難

現病歴：2007 年 10 月上旬、自宅にて倒れているのを姉が発見。処方されている薬剤を大量服薬した形跡や吐物があり、意識状態の改善を認めないため、3 日後に当院救急搬送となる。

既往歴：うつ病、不安神経障害、高血圧

家族歴：なし

アレルギー：なし

アルコール：なし

喫煙歴：15本/日×20年間  
入院時身体所見：  
身長：168cm、体重：91.6kg (BMI:36)  
JCS:III-300 (GCS: E1V1M1)  
体温：37.1℃、血圧：164/94mmHg、脈拍：  
118/min、呼吸数：28/min (努力様)、SpO<sub>2</sub>  
(10Lマスク)：78%  
眼球結膜黄染なし、眼瞼結膜貧血なし  
顔面浮腫状、表在リンパ節腫脹なし  
胸部：両側下肺野で呼吸音減弱、ラ音聴取  
せず  
腹部：膨満且つ軟、肝・脾触知せず  
下肢浮腫あり  
神経学的所見：特に異常なし

入院時検査所見(表1)：動脈血液ガス分析  
では著明な低酸素血症と軽度二酸化炭素の  
上昇を認め2型呼吸不全を呈していた。  
炎症反応、トランスアミナーゼ、LDHの上  
昇、腎機能障害を認めた。また乱用薬物ス  
クリーニング検査ではBAR、BZO、TCAの陽  
性所見を認めた。その他感染症関連検査、  
心電図、心臓超音波では明らかな異常所見  
は認めなかった。

入院時画像所見(図1)：胸部X線写真では  
両側中下肺野の透過性低下、胸部CTでは  
両側肺背側肺底部の浸潤影と無気肺を認め  
た。

入院後経過(図2)：10Lマスク下での著明な  
低酸素血症と高二酸化炭素血症を認め2型  
呼吸不全を呈していたため、気管内挿管後  
人工呼吸器管理を開始した。翌日の胸部X  
線写真では両側全肺野の透過性低下を認め、  
誤嚥性肺炎の直接障害によるARDSを呈し  
ていた。呼吸器はPCVでFiO<sub>2</sub>:1.0、PIP:34  
でもP/Fratio:100前後であり、このままでは  
高濃度酸素障害やVALIを回避できないと

考え呼吸器をHFOVへと変更した。FiO<sub>2</sub>:0.8、  
SV:160、MAP:30、Hz(f):10の設定から開始  
し、酸素化の上昇を認めたため徐々に設定  
を下げる事が可能となった。その後  
FiO<sub>2</sub>:0.5でもP/Fratio:250前後を維持するこ  
とができHFOVからの離脱、PCVへの変更  
が可能となった。経過中、一般抗菌薬の投  
与や薬剤、胃酸の誤嚥による化学性肺炎の  
可能性に対しPSLの投与、また無気肺の解  
除のため腹臥位療法の併用も行なった。そ  
の後、ARDS、肺炎および酸素化の改善を認  
め、第21病日に呼吸器からの離脱が可能と  
なった。

#### D. 考案

HFOVは高頻度振動換気法とって従来の  
人工呼吸法とは異なり、平均気道内圧  
(MAP)によって、肺容量を確保し、解剖  
学的死腔よりも小さな一回換気量(1~  
2ml/kg、stroke volume)を用いて、生理的呼  
吸数をはるかに超える高頻度(3~40Hz)で  
肺を換気する特殊な人工呼吸法である。

2000年にARDS networkによって推奨され  
た、ARDSに対する肺保護戦略(低い1回  
換気量(6ml/kg程度)を用いて最大吸気圧  
を制限し、高めのPEEPで肺容量を確保)  
の究極とも言える<sup>1)</sup>。従来のventilatorでの  
肺保護戦略による呼吸管理と比較しても、  
導入直後の酸素化能また生存率において改  
善傾向を認めた<sup>2)</sup>。

呼吸器における肺容量と気道内圧の関係を  
曲線で示した場合、Overdistentionのゾーン  
とshear stressを生じるゾーンにかからない  
safety zoneでの呼吸管理は従来の呼吸器で  
は困難であり、肺障害が著明なほど顕著で  
ある。一方、HFOVでは容量と圧の範囲が

これらにかからない safety zone で換気をすることが可能である。

過去の RCT はケースレポートから小規模 study までいくつかの文献で報告されている。いまだ死亡率に関しては有意差が得られていないのが現状だが、最も症例数の多い RCT では死亡率も HFOV で良い傾向を示し、他の多くの報告においても導入後数日間の酸素化の改善が有意に良好であったことが示されている<sup>2) 3)</sup>。

2007 の chest にこれら過去の文献的考察を含めた ARDS に対する HFOV の総説が報告されている<sup>4)</sup>。HFOV は有意な死亡率の低下を示すことはできていないが、安全にかつ堅実な酸素化の改善を図ることができるレスキューモードであることが示されている。

#### E. 結論

上記自験例では、誤嚥性肺炎、薬剤、胃酸による化学性肺炎の合併を伴う直接肺障害により ARDS が発症したと考えられた。また高度肥満もあり両側肺下葉背底部の著明な無気肺を合併し、換気容量の減少も起こっていた。著明な呼吸不全が主病態であり従来の呼吸器での管理が限界であった。酸素化の改善や高濃度酸素障害、VALI の回避を考え HFOV を導入し、改善しえた症例であった。今後、症例数を増やし ARDS におけるその有用性を更に検討したい。

#### 文献

1) ARDS Network: Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342:1301-1308, 2000

2) Derdak S, Mehta S: High-frequency oscillatory ventilation in adult acute respiratory distress syndrome in adult. *Am J Respir Crit Care Med* 166. pp 801-808, 2002

3) Bollen CW, van Well GT, et al: High-frequency oscillatory ventilation compared with conventional mechanical ventilation in adult respiratory distress syndrome : a randomized controlled trial. *Crit Care* 9:430-439, 2005

4) Kenneth P. W. Chan, Thomas E: High-frequency oscillatory ventilation for adult patients with ARDS. *CHEST* 131:1907-1916, 2007

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Sekiya K, Hojo T, Yamada H, Toyama K, Ryo H, Kimura K, Taniguchi M, Homma S: Pneumoperitoneum recurring concomitantly with asthmatic exacerbation. *Intern Med* 47: 47-49, 2008

2. Sugino K, Hasegawa C, Sano G, Shibuya K, Homma S: Pathophysiological study of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *Jap J Inf Dis* 61: 450-453, 2008

3. 杉野圭史, 本間 栄: インフルエンザウイルス感染後に ARDS を合併した重症肺炎の病態と治療. *医学のあゆみ* 224: 820-825, 2008

4. 杉野圭史, 後町杏子, 山崎陽子, 鏑

木教平、岩田基秀、石田文昭、宮崎泰斗、佐藤大輔、阪口真之、佐野剛、草野英美子、磯部和順、坂本晋、高井雄二郎、菊池直、吉原克則、本間 栄：ARDS を合併した市中肺炎患者の臨床的検討。第12回 Acute Lung Injury 研究会 30-32, 2008

5. 本間 栄：特発性間質性肺炎の診断と最新治療。東邦医学会雑誌 330-336, 2008
6. 本間 栄：特発性肺線維症 呼吸機能。新しい診断と治療のABC (泉孝英編) p61-70. 最新医学社, 大阪, 2008
7. 坂本 晋、本間 栄：今後の生理検査に望むこと：呼気凝集検査。これから広がる生理検査・新たにはじまる生理検査。検査と技術(安倍信行、竹中 克、永江 学、信岡祐彦編) p1164-1166. 医学書院, 東京, 2008
8. 本間 栄：あんしん診察室 インフルエンザ。あんしん Life 427 : p26-27, 2008

## 2. 学会発表

1. 本間 栄：特発性間質性肺炎の診断と最新治療。第131回東邦医学会総会特別講演, 東京, 2008. 2
2. 杉野圭史、後町杏子、佐野剛、岩田基秀、本間 栄、山崎陽子、石田文昭、宮崎泰斗、阪口真之、佐藤大輔、草野英美子、磯部和順、坂本 晋、高井雄二郎、菊池 直、吉原克則、本間 栄：ARDS を合併した市中肺炎患者の臨床的検討。第12回 Acute Lung Injury 研究会, 東京,

2008. 2

3. 佐野 剛、岩田基秀、後町杏子、山崎陽子、石田文昭、阪口真之、宮崎泰斗、磯部和順、坂本 晋、本間 栄：重症市中肺炎に対するNPPV使用例の検討。第82回日本感染症学会総会, 島根, 2008. 4
4. Yamazaki Y, Sugino K, Sano G, Isobe K, Kusano E, Sakamoto S, Takai Y, Homma S: Assessment of clinical efficacy of inhaled N-acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. 2008 American Thoracic Society International Conference Toronto, Canada, 2008.5
5. 本間 栄：間質性肺炎の治療法をめぐる臨床研究の展望 N-アセチルシステインー基礎と臨床—。第48回日本呼吸器学会学術講演会シンポジウム, 神戸, 2008. 6
6. 磯部和順、秦 美暢、阪口真之、本間 栄、木教平、佐野 剛、杉野圭史、草野英美子、坂本 晋、高井雄二郎、長谷川千花子、渋谷和俊、笹本修一、高木啓吾、本間 栄：間質性肺炎(IP)合併肺癌における治療後急性増悪の検討。第48回日本呼吸器学会学術講演会ミニシンポジウム, 神戸, 2008. 6
7. 坂本 晋、本間 栄、木教平、後町杏子、岩田基秀、山崎陽子、石田文昭、菊池直、佐藤大輔、佐藤敬太、阪口真之、宮崎泰斗、佐野 剛、杉野圭史、草野英美子、磯部和順、高井雄二郎、本間 栄：間質性肺炎の急性増悪に

- 対する sivelestat sodium hydrate の有用性. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 2008.6
8. 後町杏子、杉野圭史、佐野 剛、草野英美子、磯部和順、坂本 晋、高井雄二郎、本間 栄: ARDS を合併した市中肺炎患者の臨床的検討. 第 48 回日本呼吸器学会学術講演会, 神戸, 2008.6
  9. 秦 美暢、福森和彦、草野英美子、阪口真之、笹本修一、田巻一義、高橋祥司、鑄木教平、菊池 直、坂本晋、磯部和順、本間 栄、中山晴雄、渋谷和俊、高木啓吾: 術後急性増悪を生じた特発性肺線維症合併肺癌の 1 例. 第 152 回日本肺癌学会関東部会, 東京, 2008.7
  10. 松清 靖、草野英美子、佐野 剛、伊藤貴文、後町杏子、鑄木教平、岩田基秀、村松陽子、石田文昭、宮崎泰斗、阪口真之、佐藤大輔、磯部和順、坂本 晋、高井雄二郎、本間 栄: NOx ガス吸入による急性肺障害の 2 症例. 第 180 回日本呼吸器学会関東地方会, 東京, 2008.7
  11. 磯部和順、秦 美暢、阪口真之、鑄木教平、後町杏子、岩田基秀、石田文昭、小林美奈穂、佐藤大輔、杉野圭史、佐野 剛、草野英美子、坂本晋、高井雄二郎、高木啓吾、本間 栄: 通常型間質性肺炎(UIP)合併肺癌における治療後急性増悪の検討. 第 101 回臨床呼吸生理研究会学術集会, 2008.11
  12. 坂本 晋、本間 栄: 特発性肺線維症の急性増悪における Cyclosporin A 投与の有用性に関する臨床的検討. 第 12 回東京呼吸病態研究会, 東京, 2008.11
  13. 鑄木教平、坂本 晋、伊藤貴文、岩田基秀、後町杏子、山越志保、石田文昭、小林美奈穂、佐藤大輔、阪口真之、佐野 剛、杉野圭史、草野英美子、磯部和順、高井雄二郎、黒崎敦子、植草利公、本間 栄: Pemirexed による薬剤性肺障害を合併した悪性胸膜中皮腫の一例. 第 153 回日本肺癌学会関東部会, 東京, 2008.12
- 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  
なし

表1

## 入院時検査所見

<生化学>		<血液>		<血液ガス分析> (10L/分)	
Na	138 mM	RBC	3.13 $\times 10^9/\text{mm}^3$	pH	7.314
K	3.9 mM	Hb	10.6 g/l	$\text{PaO}_2$	79.1 Torr
Cl	107 mM	MCV	99.7 fl	$\text{PaO}_2$	71.2 Torr
TP	8.3 g/dl	MCHC	33.9 %	$\text{HCO}_3^-$	24.4 mmol/L
Alb	2.1 g/dl	Hct	31.2 %	BE	-1.6
T-bil	0.8 mg/dl	Plt	2.26 $\times 10^4/\text{mm}^3$	<尿>	
BUN	5.3 mg/dl	WBC	3600 $/\text{mm}^3$	比重	1.025
Cr	1.97 mg/dl	Baso	0.0 %	PH	5
AST	196 IU/l	Eosino	0.0 %	糖	(-)
ALT	50 IU/l	Band	30.0 %	蛋白	(2+)
LDH	1250 IU/l	Seg	39.0 %	潜血	(2+)
-GTP	191 IU/l	Lymph	21.0 %	7糖>	(-)
CK	420 IU/l	Mono	5.0 %	扁平上皮	(1)
CK-MB	14 IU/l	ESR	100 mm/hr	精子付託	(1)
				顆粒付託	(1)

図1

## 入院時胸部画像所見

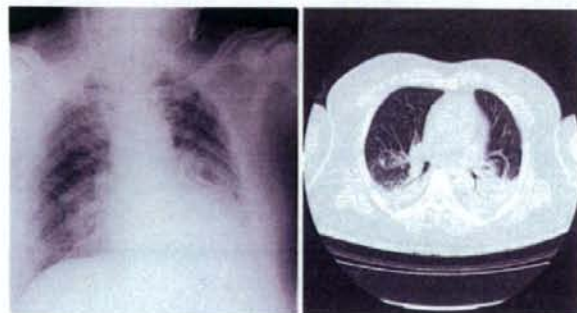
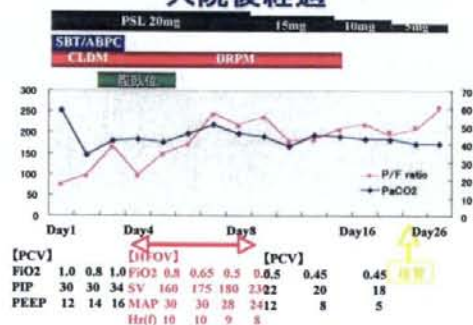


表2

## 入院後経過



## インフルエンザ誘導の急性肺障害機構の解析

研究分担者：鈴木和男 千葉大学大学院医学研究院 特任教授  
研究協力者：長尾朋和 千葉大学大学院医学研究院 特任教員

協力者：

国立感染研・免疫部：小林和夫、山本紀一、大島正道、戸高玲子  
国立感染研・感染病理部：佐多徹太郎、中島典子、佐藤由子  
横浜市大・国際総合：荒谷康昭  
国立国際医療センター 麻酔科：河内正治、鄒軍  
千葉大院医 免疫発生学：中山俊憲、土橋英紀、鄒軍

研究要旨：

高毒性鳥インフルエンザ(H5N1)によって短期間で誘発される重症の急性呼吸障害(ARDS:急性呼吸窮迫症候群)の病態解析はほとんど進んでいない。本研究において、マウス馴化インフルエンザウイルス(IFV, PR8 株)によって誘導される劇症肺炎のモデル作製について検討した。また、PR8 誘発のサイトカイン誘導と肺炎の病態を調べた。その結果、気管支肺胞洗浄液(bronchoalveolar lavage fluid: BALF)のBio-Plexによる網羅的解析から、サイトカイン、ケモカインの内、KC、RANTES、MCP-1、IL-6、G-CSF、IL-1 $\beta$ が経時的に上昇し、それとともに、BALF中には多数の好中球浸潤が観察された。感染4日後には上皮細胞の剥離、好中球と肺胞マクロファージの形態変化を伴う貪食像が確認された。また、肺組織は、好中球を主体とする多数の浸潤細胞と細気管支破壊像が観察された。これらの結果は、KCによる好中球の浸潤と、RANTESやMCP-1によるマクロファージ、リンパ球の浸潤誘導とIL-6、G-CSF、IL-1 $\beta$ による炎症惹起が、劇症型肺障害を誘発していると考えられる。

### A. 研究目的

インフルエンザ(H5N1)は、ベトナムやインドネシアをはじめ、東南アジアを中心にひろがり世界の脅威になっている。インフルエンザ(H5N1)は、これまでのインフルエンザにはない病態を示し、タイをはじめとするインフルエンザ(H5N1)陽性肺炎患者で死亡した病理解剖所見から肺にはウイルスは検出できず、極度の

ARDSによって呼吸不全になったことが報告されている(Human Pathol, 2005)。また、ベトナムのケースでは、かなり初期段階の病態での死亡例がある(NEJM, 2005)。また、ごく最近われわれの病理解析から肺胞上皮細胞と血管内皮細胞にH5N1ウイルスを確認している(Jpn J Infect. Dis, 2008)。その病態から、肺でのウイルス増殖が関与して、劇症型のARDS



が誘発されたことが主な死因となっておりと推定される。また、死因は、多臓器不全というより呼吸障害によっていることがあきらかになっていることが判明している(submitted)。これらの事実は、インフルエンザ(H5N1)感染によって病初期の急速に誘導される ARDS 進行には、季節インフルエンザとは異なり、爆発的なサイトカインストームに続く好中球・マクロファージ浸潤による呼吸障害の進展を類推させる。

本疾患の呼吸障害の発症機構とその治療薬開発には、インフルエンザ誘導のモデルマウスの作製が必須であるため、昨年度までに、これらの呼吸障害を惹起するモデルマウスを作製してきた。インフルエンザ H5N1 ウイルスを使用した呼吸障害モデルの作製を検討したが、H5N1 ウイルスの使用を許諾しない(関係部署談)とのことから、PR8 株インフルエンザウイルスにより劇症型を作製した。劇症呼吸不全を誘発する因子としてサイトカインストームとその産生の経時変化を検討した。

本年度は、昨年度にひきつづき、ハノイの国立病院(国立熱帯病・感染症研究所、国立小児病院)を訪問し、その臨床データをもとに、PR8 株により、劇症型呼吸不全モデル動物を作製し、その肺組織の病理学的検索をし、気管支洗浄液(BALF)中の細胞の増加をしらべ、サイトカイン・ケモカインの網羅的解析から、サイトカインストームの経時的な動態を解析することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1) マウスを用いた PR-8 株感染

インフルエンザ PR-8 株 0.75-3.3LD<sub>50</sub> をマウスネブタール麻酔下、鼻腔から Balb/c(8 週齢、メス)に、投与・感染させ、感染 1-7 日の間の経時的な肺組織の変化、BALF 中の細胞の増加、サイトカイン産生の変化を網羅的に定量した。コントロールには、10%FBS-DMEM

を投与した。

### 2) 肺組織病変の経時変化の観察

感染後毎日、ネブタールにて安楽殺のマウスより肺組織を摘出し、ホルマリン固定・パラフィンブロックを、HE 染色および A 型インフルエンザ抗体により肺組織でのインフルエンザの増殖を調べた。

### 3) BALF 中の細胞の経時変化の観察

感染後毎日、ネブタール麻酔下、PBS 1 mL にて BALF を採取し、サイトスピンにより細胞をスライドグラスに収集し、Dif-quick にて固定染色し、顕微鏡により細胞種の変化を観察した。

### 4) 血漿および BALF のサイトカイン・ケモカインの解析

感染後経時的に、ネブタールにて安楽殺し、心臓より採取した血漿および BALF を Triton X-100 でウイルスを不活性化し、Bio-Plex™ Cytokine Assays (Bio-RAD) により、23 種類サイトカイン・ケモカイン(IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, KC, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, MCP-1, MIP-1β, TNF-α, RANTES など)を同時に測定・解析した。

## C. 研究結果

本年度は、インフルエンザ PR8 株投与による、劇症型呼吸不全モデル動物を作製し、その肺組織の病理所見、BALF 中の細胞の増加と網羅的なサイトカイン産生を定量した。

### 1) マウスを用いた PR-8 株感染

インフルエンザ PR-8 株の感染により、IFV が 2 日後から観察された(図 1)。

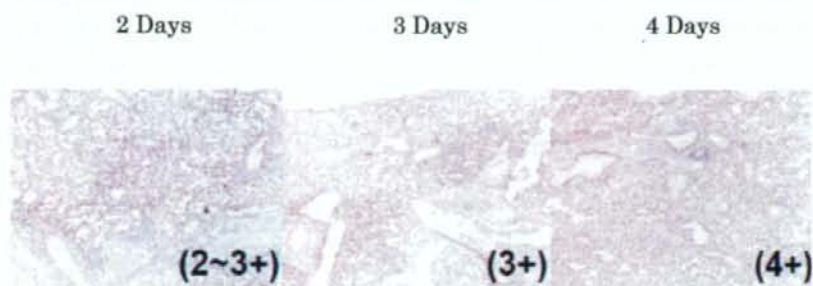


図1. 肺組織のIFV抗体陽性細胞

数値は、陽性度合いを示す。

IFV感染の広がり方でレベルを4段階に分けた。1+:局所のみ、2+:局所を中心に感染層が広がっている、3+:広く感染層が確認、4+:全体に感染が拡大

## 2) 肺組織病変の経時的変化の観察

感染後翌日より経時的に固定したマウスの肺組織のパラフィンブロックのHE染色像の観察から、2日以後、細気管支の障害が強くなった。

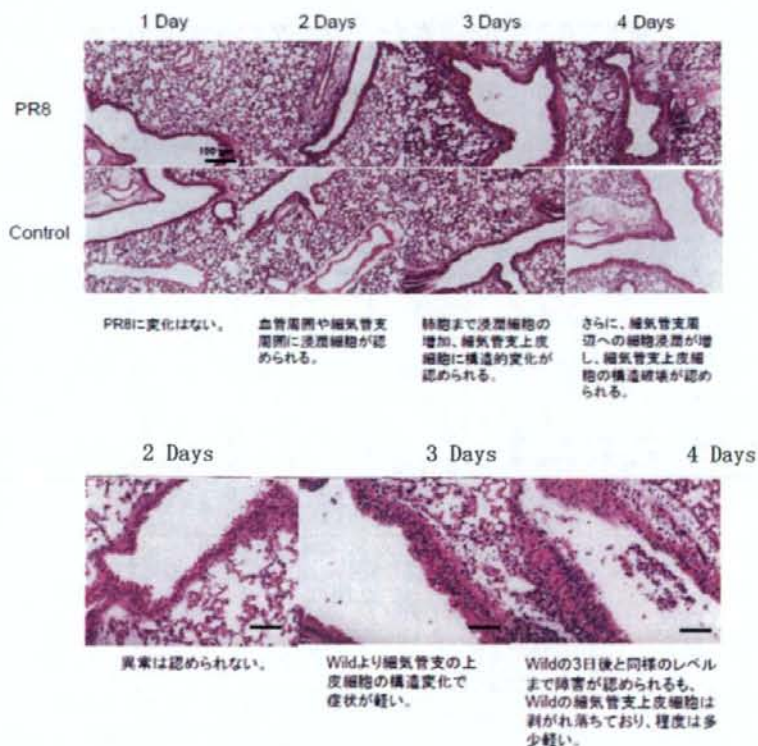


図2. 細気管支の障害の経時的進展

### 3) BALF 中の細胞の経時的变化の観察

BALF 中の細胞をサイトスピんでスライドグラスに収集して Dif-quick にて固定染色し、顕微鏡により細胞種を観察したところ、好中球を主体とする浸潤細胞は3日以後から増加していた(図3)。

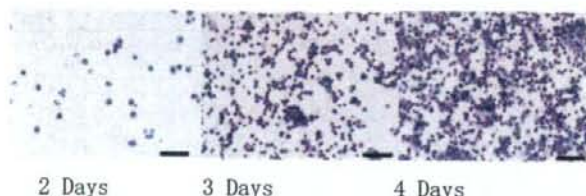
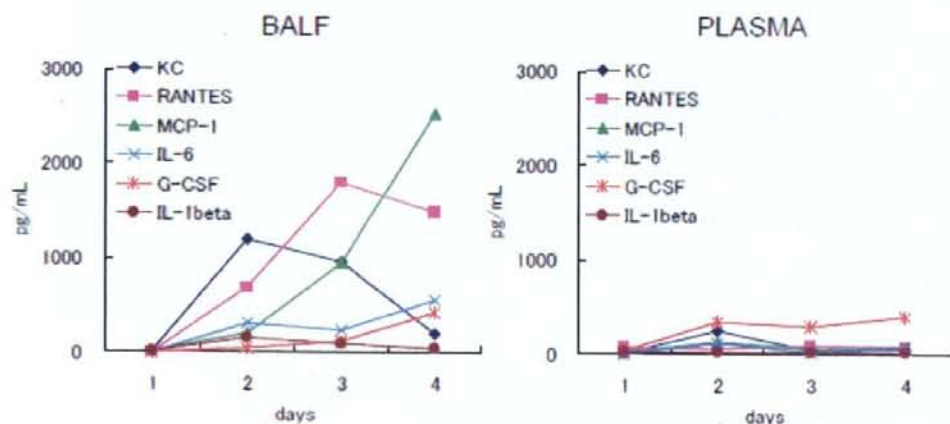


図3. BALF 中の浸潤細胞

### 4) 血漿および BALF のサイトカイン・ケモカインの解析

血漿および BALF を Triton X-100 でウイルスを不活性化し、Bio-Plex™ Cytokine Assays (Bio-RAD) により、23 種類サイトカイン・ケモカインを定量した。その結果、ほとんどのサイトカイン・ケモカインが上昇していたが、特に BALF 中に顕著な上昇が認められ、かつ経時的な上昇が際立ったものには、KC, RANTES, IL-6, MCP-1, IL-1 $\beta$ , G-CSF があり、この順に高値を示した(図4)。しかし、これらのサイトカイン・ケモカイン内 G-CSF 以外は、血漿中での増加は顕著ではなかった。G-CSF は、BALF 中では、4 日後にピークとなるのに先立ち2日後に血漿中で上昇をはじめ、レベルも BALF と同程度に高い値を示した。

図4. BALF 中および血漿中の顕著なサイトカイン、ケモカインの経時的変動



#### D. 考察

本年度は、マウスに IFV-PR8 株感染させ、劇症型呼吸不全モデル動物の肺組織の病理所見、BALF 中の細胞の増加、サイトカイン・ケモカインの網羅的解析を行い、サイトカインストームの経時的な動態を解析した。

##### 1) マウスを用いた PR-8 株感染による肺組織病変とウイルス増殖の経時的变化

インフルエンザ PR-8 株の感染により、IFV が 2 日後から増殖像が観察され、2 日以後、細気管支の障害が強く認められた。障害と IFV 増殖が同時に進行していることが示された。

##### 2) BALF 中の細胞の浸潤とサイトカインストームの経時的变化

BALF 中への浸潤細胞は、好中球を主体とする浸潤細胞は 3 日以後から増加し、その前日に、好中球走化性ケモカイン KC の爆発的産生が誘導されていることによることがうかがえる。それと平行してウイルスの増殖と組織破壊が進展していることが推定される。これらの反応に、RANTES, IL-6, MCP-1, IL-1 $\beta$ , G-CSF が深く関与していることが予想される。なかでも、BAL に先行して、血液中に 2 日後より増加する G-CSF は、サイトカインストームと連動している可能性が示唆された。

以上から、劇症型 ARDS のモデルの構築とその病態におけるサイトカイン発現およびそれに関連した分子の発現状態を解析することができた。次年度以後、劇症型 ARDS のモデルを用いて、ウイルス増殖、サイトカインストーム、組織破壊に主要な役割を担う分子の特定を進める。

#### E. 結論

本年度は、マウス馴化 IFV, PR8 株によって誘導される劇症肺炎のモデル作製について検討した。また、PR8 誘発のサイトカイン誘導と肺炎の病態を調べた。その結果、BALF 中の

サイトカイン、ケモカインの内、KC, RANTES, MCP-1, IL-6, G-CSF, IL-1 $\beta$  が経時的に上昇し、それとともに、多数の好中球浸潤が観察された。感染 4 日後には上皮細胞の剥離、好中球と肺胞マクロファージの形態変化を伴う貪食像が確かめられた。これらの結果は、KC による好中球の浸潤と、RANTES や MCP-1 によるマクロファージ、リンパ球の浸潤誘導と IL-6, G-CSF, IL-1 $\beta$  による炎症惹起が、劇症型肺障害を誘発していると考えられる。

以上から、作製した劇症型 ARDS のモデルを用いて、劇症型 ARDS の誘発分子の特定と発症機構ならびに治療法の開発に一步前進した。

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Richard A. Watts, David G.I. Scott, David R.W. Jayne, Toshiko Ito-Ihara, Eri Muso, Fujimoto S, Harabuchi Y, Shigeto Kobayashi, Kazuo Suzuki, Hiroshi Hashimoto. Renal Vasculitis in Japan and UK - are there differences in epidemiology? *Nephrol. Dialysis Transplant.* 23(12):3928-3931, 2008.
2. Shigeto Kobayashi, Akihiko Ito, Daisuke Okuzaki, Hiroaki Onda, Norikazu Yabuta, Ippei Nagamori, Kazuo Suzuki, Hiroshi Hashimoto and Hiroshi Nojima. Expression profiling of PBMC-based diagnostic gene markers isolated from vasculitis patients. *DNA Research* 15(4):253-265, 2008(Aug).
3. Ayako Mabuchi, Tomokazu Nagao, Osamu Koshio, Toshiyuki Ishiwata, Akihiko Yano, Kazuo Suzuki, Kozo Yokomuro and Antony M Wheatley. Role of F4/80+Mac-1<sup>high</sup>

- adherent non-parenchymal liver cells in concanavalin A-induced hepatic injury in mice. *Hepatology Res.* 38:1040-1049, 2008(Oct).
4. Akiyoshi Hoshino, Tomokazu Nagao, Noriko Nagi-Miura, Naohito Ohno, Masato Yasuhara, Kenji Yamamoto, Toshinori Nakayama, Kazuo Suzuki. MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils in vitro via classical complement pathway-dependent manner. *J. Autoimmunity* 31:79-89, 2008.
  5. Yasuda H, Yoshizawa N, Kimura M, Shigematsu M, Matsumoto M, Kawachi S, Oshima M, Yamamoto K, Suzuki K. Preparedness for the spread of influenza: prohibition of traffic, school closure, and vaccination of children in the commuter towns of Tokyo. *J Urban Health* 85(4):619-635, 2008.
  6. Nguyen Thanh Liem, Noriko Nakajima, Late Le Phuc Phat, Yuko Sato, Hoang Ngoc Thach, Pham Viet Hung, Luong Thi San, Harutaka Katano, Toshio Kumasaka, Teruaki Oka, Shoji Kawachi, Takeji Matsushita, Tetsutaro Sata, Koichiro Kudo and Kazuo Suzuki. H5N1-infected cells in lung with diffuse alveolar damage in exudative phase from a fatal case in Vietnam. *Jpn. J. of Infectious Dis.* 61: 157-160, 2008.
  7. Xiao G, Miyazato A, Inden K, Nakamura K, Shiratori K, Nakagawa K, Miyazawa T, Suzuki K, Kaku M, Kawakami K. *Cryptococcus neoformans* inhibits nitric oxide synthesis caused by CpG-oligodeoxynucleotide-stimulated macrophages in a fashion independent of capsular polysaccharides. *Microbiol Immunol.* 52:171-179, 2008.
  8. Nakamura K, Miyazato A, Xiao G, Hatta M, Inden K, Aoyagi T, Shiratori K, Takeda K, Akira S, Saijo S, Iwakura Y, Adachi Y, Ohno N, Suzuki K, Fujita J, Kaku M, Kawakami K. Deoxynucleic acids from *Cryptococcus neoformans* activate myeloid dendritic cells via a TLR9-dependent pathway. *J Immunol.* 15:4067-1074, 2008.
- TV、新聞、メディア
- 2008年12月27日-2009年1月3日「新型インフルエンザの対策は？」週間東洋経済 p115.
  - 2008年12月18日 読売新聞 「備える：新型インフルエンザ＝家庭で子供に事前教育」
  - 2008年10月28日 朝日新聞 「新型インフルに備える」
  - 2008年7月4日 日本経済新聞 「新型インフルエンザ対策のシミュレーション」
  - 2008年7月4日 読売新聞 「新型インフルエンザ対策のシミュレーション」
  - 2008年7月4日 毎日新聞 「新型インフルエンザ対策のシミュレーション」
  - 2008年7月3日 NHK-TV 「夜7時のニュース」—新型インフルエンザ対策のシミュレーション—
- 総説（邦文）
1. 鈴木和男、安田英典「わが国の新型インフルエンザの影響予測とその対策」インフルエンザ（メディカルビュー社）in press, 2008.
  2. 鈴木和男 感染症を抑え込め：大規模予測モデル「感染症の脅威：パンデミックへの備えは万全か」日経サイエンス別冊 163, pp38-46, 2008年11月
  3. 鈴木和男 シミュレーションによる感染

症の対策支援「感染症の脅威：パンデミックへの備えは万全か」日経サイエンス別冊 163, pp38-46, 2008年11月

4. 鈴木和男 インフルエンザ感染と免疫応答免疫学事典(朝倉書店:桂監修) in press
5. 鈴木和男「好中球機能研究の最前線—新たな展開—」総論(インフルエンザを含む)「細胞」 in press
6. 鈴木和男、河内正治 特集「ARDSとインフルエンザ—呼吸器不全の病態と発症機構—」「はじめに」医学のあゆみ 225 巻 11号(2008年3月15日号)
7. 鈴木和男 特集「ARDSとインフルエンザ—呼吸器不全の病態と発症機構—」「インフルエンザによる呼吸器不全に関する Peroxidase ファミリー」医学のあゆみ 225 巻 11号(2008年3月15日号)
8. 安田英典、鈴木和男 特集「ARDSとインフルエンザ—呼吸器不全の病態と発症機構—」「インフルエンザの拡大シミュレーション」医学のあゆみ 225 巻 11号(2008年3月15日号)

#### 学会発表

##### 【国内学会】

1. 鈴木和男、他 ARDSのサイトカインストーム 第55回日本麻酔科学会 2008年6月12-14日 横浜
2. 鈴木和男 インフルエンザ対策 成田国際空港内講演会 2008年10月20日 千葉
3. 鈴木和男 感染と血管炎を結ぶ機序 第32回日本腎臓学会東部学術集会 2008年10月11-12日 東京
4. 河内正治、鈴木和男、NHP-ハノイにおけるインフルエンザ(H5N1)症例 H5N1-ARDS (FARDS) と non H5N1-ARDS (FARDS)の差異の検討 第14回MPO研究会 2008年10月24-25日 東京
5. 鄒軍、志賀由佳、鈴木和男、ARDS病態モデルの肺組織傷害に連動するサイトカインストーム開始時のTNF- $\alpha$ の役割 第14回MPO研究会 2008年10月24-25日 東京
6. 鈴木和男 わたしたちの体の中を見るバイオイメージングと新技術—からだの中

をみるバイオイメージング 第17回バイオイメージング学会 2008年10月30-11月1日 千葉

7. 鈴木和男 バイオイメージング」と「化学工学」の融合学理：2002年から未来への橋渡し—めざしてきたもの 第17回バイオイメージング学会 2008年10月30-11月1日 千葉
8. 鄒軍、前原康宏、長尾朋和、戸高玲子、大島正道、小林和夫、志賀由佳、河内正治、中山俊憲、鈴木和男 ARDS病態モデルの肺組織変化に連動するサイトカインストームの意義 第38回日本免疫学会 2008年12月1-3日 京都

##### 【国際学会】

1. Yasuda H, Suzuki K Preparedness of Influenza in the commuter towns of Tokyo; Analysis of model cities; Analysis of model cities and a metaphor model The NIMS 2008 Conference & The 4th East Asia SIAM Conference (東アジア生物数学コロキウム) 2008/10/10-10/12 Daejeon, Korea.
  2. Yasuda H, Suzuki K Preparedness of Influenza in the commuter towns of Tokyo; Analysis of model cities The second China-Japan Colloquium of mathematical biology (第二回日中生物数学コロキウム) 2008/8/4-8/7 Okayama, Japan.
  3. K. Suzuki Xiamen University Medical School Xiamen University Medical School Meeting (アモイ大学会議) 2008/11/19-20 Xiamen, China
  4. K. Suzuki Imaging of Vasculitis 2nd International Symposium for Bioimaging in Queenstown (第二回国際バイオイメージング学会) 2008/11/26-28 Queenstown, New Zealand
  5. S. Kawachi, K. Suzuki, et al. Treatment of severe ARDS (including H5N1-FARDS) with IVIg -From the Cases of NHP-Hanoi- International Forum on inflammation-2009, 'IVIg treatment and development of synthetic IgG' (国際炎症フォーラム 2009, 人工グロブリンによる血管炎治療 2009/1/9-10 Tokyo
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得  
特になし
  2. 実用新案登録  
特になし

## ARDS における Th1/Th2 バランスの異常

研究分担者 中山俊憲 千葉大学大学院医学研究院 教授  
研究協力者 長谷川明洋 山口大学大学院医学系研究科 講師

### 研究要旨

ナイーブ CD4T 細胞は、外来抗原の刺激により末梢リンパ組織でそれぞれ異なったリンホカインを産生する Th1 または Th2 タイプのメモリーT 細胞に分化する。Th1 細胞と Th2 細胞は互いにバランスをとりながら生体防御機構における中心的な役割を担っており、感染症やアレルギーの病態と Th1 と Th2 のバランスには密接な関係があると考えられている。CD69 分子は c-type lectin ファミリーに属する II 型の膜分子で、早期活性化マーカー分子としてリンパ球の活性化の指標として広く用いられている。機能の詳細はこれまであまり明らかにされていないが、炎症局所に浸潤する炎症細胞はすべて CD69 分子を発現していることから、さまざまな炎症反応の誘導・維持に重要な役割を果たしていると考えられる。これまでに CD69 ノックアウトマウスを作製し、疾患との関わりを解析を進め、CD69 ノックアウトマウスではアレルギー性喘息が起きないことを見出した。また抗 CD69 抗体の投与で炎症反応が抑制され、治療効果が認められた。さらにイメージング技術を駆使した解析により、特に T 細胞上の CD69 分子がアレルギー性喘息の発症に重要であることを明らかにしてきた。今後、ARDS の実験モデルを用いて ARDS の発症にともなう肺への免疫炎症細胞浸潤のイメージング解析を行うとともに CD69 分子の関与について検討する。また抗 CD69 抗体投与による肺への炎症細胞の浸潤抑制について検討し、Th1/Th2 バランスの解析とともに急性免疫炎症細胞浸潤を抑制する至適条件の検討を行う。

### A. 研究目的

ナイーブ CD4T 細胞は、外来抗原の刺激により末梢リンパ組織でそれぞれ異なったリンホカインを産生する Th1 または Th2 タイプのメモリーT 細胞に分化する。Th1 細胞は IFN- $\gamma$  を産生して細胞内感染病原体に対する細胞性免疫に関与し、Th2 細胞は IL-4、IL-5、IL-13 など産生して細胞外感染病原体に対する液性免疫やアレルギー反応に関与する。Th1 細胞と Th2 細胞は互

いにバランスをとりながら生体防御機構における中心的な役割を担っており、感染症やアレルギーの病態と Th1 と Th2 のバランスには密接な関係があると考えられている。

CD69 分子は、c-type lectin family に属する II 型の膜分子で、45kd の膜蛋白であるが、通常はホモダイマーとして存在している（図 1）。T 細胞や B 細胞を刺激すると数時間以内に発現が上昇し、早期活性化マーカー分子としてリンパ球の活性化の指標として広く用いられ

ている。また胸腺内で分化途中のセレクションを受けているT細胞にも発現がみられる。コレセプターとして抗原レセプターからのシグナル伝達を増強する機能が推測されているが、詳細は不明である。リガンドは現在までのところ、同定されていない。一方、血小板には恒常的に発現しており、活性化した好中球や好酸球などにも発現がみられることから、血小板の機能発現や局所の炎症反応における役割が推測されている。

#### 樹立した CD69 ノックアウト

(CD69-KO) マウスを用いて、生体内での CD69 分子の役割の解析を進めることを目的として、卵白アルブミン (OVA) を用いた気道炎症モデルを用いた解析を行った。

このアレルギー性喘息モデルはTh2細胞依存性であるが、Th2細胞は数の上では浸潤細胞の数パーセント程度で、Th2細胞が実際の肺の炎症の場でどのような機序で炎症誘導における重要な機能を果たしているのかに関してはほとんど明らかになっていない。そこで、蛍光を発する GFP トランスジェニックマウスの Th2 細胞を移入するシステムを使って、喘息を起こしたマウスの肺での Th2 細胞の浸潤を蛍光顕微鏡を用いて定量的に解析できるイメージング解析システムを構築し、喘息肺への T 細胞浸潤における CD69 分子の役割を解析した。

### B. 研究方法

#### 1) アレルギー性喘息の誘導

マウスでのアレルギー性喘息モデルとして、卵白アルブミン (OVA) で免疫後、OVA

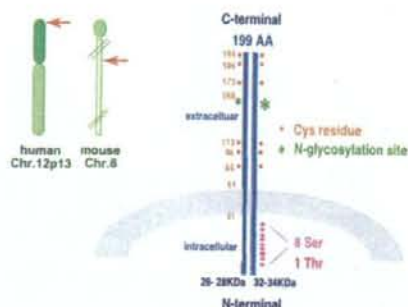


図1 CD69の分子構造

を吸入させて気道炎症を誘導する系を用いた。気道炎症誘導後、肺洗浄を行い、浸潤細胞の種類と数と調べた。また気管支および肺の組織切片を作製し、炎症細胞の浸潤や腺分泌の程度を比較した。メタコリン誘導性の気道過敏症モデルを用いて、機能面の評価を行った。さらに抗 CD69 抗体を用いて急性の気道炎症を抑制する試みを行った。炎症の誘導前に投与、また炎症誘導の後に投与を行って、その効果を解析した。

#### 2) T細胞浸潤のイメージング解析

蛍光を発する GFP トランスジェニックマウスを OVA と alum で免疫し、脾臓の CD4 T 細胞を精製分離し、同系の免疫していない C57BL/6 マウスに移入した。2日後に OVA を吸入させ、その後肺に集積してくる GFP 陽性細胞を蛍光顕微鏡で観察した。

#### (倫理面への配慮)

動物実験は千葉大学の実験動物委員会の定める規定を遵守して行った。



### C. 研究結果

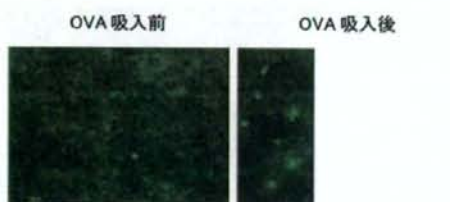
#### 1) CD69 ノックアウトマウスでのアレルギー性喘息

CD69 ノックアウトマウスでは、肺胞洗浄液中の浸潤細胞、とくに好酸球の数が有意に減少していた。肺の組織染色を行ったところ、CD69 ノックアウトマウスでは細胞浸潤や気道炎症に伴う腺分泌が抑制されており、メタコリン誘導性の気道過敏症も減少していた。抗 CD69 抗体の投与でも喘息反応は抑制された。詳細な経時的解析を行ったところ、気道炎症が誘導された後でも抗 CD69 抗体の投与によって、炎症が強く抑制されることが明らかになった。また野生型マウスから T 細胞や B 細胞、好中球、マクロファージなどを個別に単離して CD69 ノックアウトマウスに注射した後、喘息を誘導する実験を行ったところ、T 細胞を移入した場合に喘息発症の抑制が解除された。

#### 2) T 細胞浸潤のイメージング解析

OVA 免疫した GFP トランスジェニックマウスから CD4T 細胞を精製分離し、同系の野生型マウスに移入して 2 日後に OVA 吸入を行うと、その 1 日後には肺への GFP 陽性細胞の集積が観察できた (図 2)。タイムコースを追った実験を行ったところ、GFP 陽性細胞の肺への集積は抗原吸入後 18~24 時間でピークに達し、その後も肺に留まることが明らかになった。この肺への集積は OVA プライミング依存的で、免疫していない GFP トランスジェニックマウスの CD4T 細胞は肺に集積しなかった。また、CD8T 細胞でも同様の集積が観察された。このマウスの喘息モデルでもステロイ

ド剤を投与すると炎症が抑制されることがわかっているが、OVA 吸入と同時にステロイド剤を投与すると GFP 陽性 CD4T 細胞の浸潤が抑制されることが明らかになった。次にこのイメージングシステムを用いて CD69 ノックアウトマウスの CD4T 細胞について、抗原吸入後の肺への集積能を野生型マウスの CD4T 細胞と比較したところ、CD69 ノックアウトマウスの CD4T 細胞は肺への集積能が低かった。したがって、特に T 細胞上の CD69 分子がアレルギー性喘息の発症に重要であることが明らかになった。



X 160

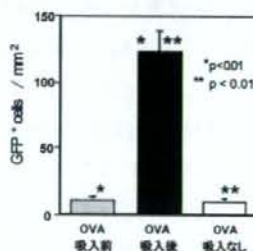


図 2 OVA 吸入により肺に集積した GFP 陽性 CD4T 細胞

### D. 考案

アレルギー性喘息を起こした正常マウスでは、浸潤した炎症細胞上に CD69 の発現がみられ、CD69 ノックアウトマウスでは喘息が起きないことから、CD69 分子が喘息の発症に重要な役割を果たしていると考えられた。さらに正常マウスからの細胞移入実験やイメージ

ング解析の結果から、特にT細胞上のCD69分子がアレルギー性喘息の発症に重要であると考えられた。また、抗CD69抗体の投与によっても喘息反応が抑制できることが明らかになった。従って喘息のようなアレルギー性気道炎症のみならず、種々の肺の炎症疾患に対して、CD69分子を標的にしたまったく新しい治療法の開発が可能になるかもしれない。

#### E. 結論

CD69 ノックアウトマウスではアレルギー性喘息が起きないことを見出した。特にイメージング解析の結果からT細胞上のCD69分子がアレルギー性喘息の発症に重要であると考えられた。また抗CD69抗体投与により、肺のアレルギー性炎症を抑制する治療効果が有ることが分かった。今後、ARDSの実験モデルを用いてARDSの発症にともなう肺への免疫炎症細胞浸潤のイメージング解析を行うとともにCD69分子の関与について検討し、Th1/Th2バランスの解析を行う。また抗CD69抗体投与による肺への炎症細胞の浸潤抑制について検討し、急性免疫炎症細胞浸潤を抑制する至適条件の検討を行い、抗体治療の可能性を追求する。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Motohashi, S., and Nakayama, T.: Clinical applications of natural killer T cell-based immunotherapy for cancer. *Cancer Sci.* 99:638-645, 2008.
2. Yamashita, M., Kuwahara, M., Suzuki, A., Hirahara, K., Shinnakasu, R., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Motohashi, S., Iwama, A., and Nakayama, T.: Bmi1 regulates memory CD4

T cell survival via repression of the *Noxa* gene. *J. Exp. Med.* 205:1109-1120, 2008.

3. Hoshino, A., Nagao, T., Nagi, M. N., Ohno, N., Yasuhara, M., Yamamoto, K., Nakayama, T., and Suzuki, K.: MPO-ANCA induces IL-17 production by activated neutrophils *in vitro* via classical complement pathway-dependent manner. *J. Autoimmun.* 31:79-89, 2008.
4. Ito, H., Ando, K., Ishikawa, T., Nakayama, T., Taniguchi, M., Saito, K., Imawari, M., Moriwaki, H., Yokochi, T., Kakumu, S., and Seishima, M.: Role of  $V\alpha 14^+$  NKT cells in the development of hepatitis B virus specific CTL: Activation of  $V\alpha 14^+$  NKT cells promotes the breakage of CTL tolerance. *Int. Immunol.* 20:869-879, 2008.
5. Nakayama, T., and Yamashita, M.: Initiation and maintenance of Th2 cell identity. Truncated title: Regulation of Th2 responses. *Curr. Opin. Immunol.* 20:265-271, 2008.
6. Ito, T., Hasegawa, A., Hosokawa, H., Yamashita, M., Motohashi, S., Naka, T., Okamoto, Y., Fujita, Y., Ishii, Y., Taniguchi, M., Yano, I., and Nakayama, T.: Human  $T_H1$  differentiation induced by lipoarabinomannan/lipomannan from *Mycobacterium bovis* BCG Tokyo-172. *Int. Immunol.* 20:849-860, 2008.
7. Suto, A., Kashiwakuma, D., Kagami, S., Hirose, K., Watanabe, N., Yokote, K., Saito, Y., Nakayama, T., Grusby, J. M., Iwamoto, I., and Nakajima, H.: Development and characterization of IL-21-producing  $CD4^+$  T cells. *J. Exp. Med.* 205:1369-1379, 2008.
8. Hirahara, K., Yamashita, M., Iwamura, C., Shinoda, K., Hasegawa, A., Yoshizawa, H., Koseki, H., Gejyo, F., and Nakayama, T.: Repressor of GATA regulates  $T_H2$ -driven allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *J. Allergy Clin. Immunol.* 122:512-520.e11, 2008.
9. Hossain, M. B., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Watarai, H., Taniguchi, M., Yamashita, M., and Nakayama, T.: Lymphoid enhancer factor interacts with GATA-3 and controls its function in T helper type 2 cells. *Immunology* 125:377-386, 2008.
10. Kawamura, T., Murakami, K., Bujo, H., Unoki, H., Jiang, M., Nakayama, T., and Saito, Y.: Matrix metalloproteinase-3 enhances the free fatty acids-induced VEGF expression in

- adipocytes through toll-like receptor 2. *Exp. Biol. Med.* 233:1213-1221, 2008.
11. Shinnakasu, R., Yamashita, M., Kuwahara, M., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Motohashi, S., and Nakayama, T.: Gfi1-mediated stabilization of GATA3 protein is required for Th2 cell differentiation. *J. Biol. Chem.* 283:28216-28225, 2008.
  12. Terashima, A., Watarai, H., Inoue, S., Sekine, E., Nakagawa, R., Hase, K., Iwamura, C., Nakajima, H., Nakayama, T., and Taniguchi, M.: A novel subset of mouse NKT cells bearing the IL-17 receptor B responds to IL-25 and contributes to airway hyperreactivity. *J. Exp. Med.* 205:2727-2733, 2008.
  13. Motohashi, S., and Nakayama, T.: Natural killer T cell-mediated immunotherapy for malignant diseases. *Frontiers in Bioscience* in press.
  14. Motohashi, S., and Nakayama, T.: Invariant natural killer T cell-based immunotherapy for cancer. *Immunotherapy* in press.
  15. Motohashi, S., Nagato, K., Kunii, N., Yamamoto, H., Yamasaki, K., Okita, K., Hanaoka, H., Shimizu, N., Suzuki, M., Yoshino, I., Taniguchi, M., Fujisawa, T., and Nakayama, T.: A phase I-II study of  $\alpha$ -Galactosylceramide(KRN7000)-pulsed IL-2/GM-CSF-cultured peripheral blood mononuclear cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer. *J. Immunol.* in press.
  16. Kunii, N., Horiguchi, S., Motohashi, S., Yamamoto, H., Ueno, N., Yamamoto, S., Sakurai, D., Taniguchi, M., Nakayama, T., and Okamoto, Y.: Combination therapy of *in vitro* expanded natural killer T cells and  $\alpha$ -galactosylceramide-pulsed antigen presenting cells in patients with recurrent head and neck carcinoma. *Cancer Sci.* in press.
2. 学会発表
    1. Nakayama, T.: Initiation and maintenance of Th2 cell identity: Regulation by Polycomb and Trithorax group molecules. National Jewish Medical and Research Center, University of Colorado at Denver and Health Sciences Center, Denver, USA, 2/22, 2008.
    2. Iwamura, C., Onodera, A. and Nakayama, T.: *Schnurri-2* regulates Th2-dependent airway inflammation and airway hyperresponsiveness. Keystone Symposia, Colorado, USA, February 24-29, 2008.
    3. Nakayama, T.: Initiation and maintenance of Th2 cell identity: Regulation by Polycomb and Trithorax group molecules. Karp Family Research Laboratories, One Blackfan Circle, 10<sup>th</sup> Floor Conference Room, Boston, USA, 3/3, 2008.
    4. Nakayama, T.: Initiation and maintenance of Th2 cell identity: Regulation by Polycomb and Trithorax group molecules. Allergy Symposium Program La Jolla Institute for Allergy and Immunology (LIAI), USA, 4/4, 2008.
    5. Nakayama, T.: *Bmi1* regulates memory Th2 cell survival via repression of the *Noxa* gene. Experimental Biology 2008, San Diego Convention Center, San Diego, USA, 4/5-9, 2008.
    6. 中山俊憲 NKT細胞免疫系を利用した癌の免疫細胞治療 特別講演 第4回北海道癌免疫制御研究会, 札幌, 6月7日, 2008.
    7. Nakayama, T.: Regulation of memory Th2 cell survival and function by the Polycomb group and Trithorax group gene products. *Immunochemistry & Immunobiology*, Magdalen College, Oxford, UK, 8/17-22, 2008.
    8. 中山俊憲 免疫システム、その統御による免疫治療の開発研究 招待講演 第84回千葉医学会学術大会, 千葉, 9月5日, 2008.
    9. 中山俊憲 メモリー-Th1/Th2細胞の形成と維持機構 第44回日本移植学会総会, 大阪, 9月19-21日, 2008.
    10. 中山俊憲、本橋新一郎 A Phase I/II study of  $\alpha$  GalCer-pulsed dendritic cells in patients with advanced or recurrent non-small cell lung cancer. 日本臨床免疫学会総会シンポジウム, 新宿, 10月17-18日, 2008.
    11. Nakayama, T.: Initiation and maintenance of Th2 cell identity: Regulation by Polycomb and Trithorax group molecules. 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12月1日-3日, 2008.
    12. 楠鈴奈、長尾朋和、富澤一夫、雑賀寛、城兼輔、中山俊憲、鈴木和男 SCG/Kj mice

- に対する 15-deoxyspergualin 治療による CD3<sup>+</sup>B220<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>細胞の減少 第 14 回 MPO 研究会, 東京, 10 月 24-25 日, 2008.
13. 富澤一夫、長尾朋和、雑賀寛、大島正道、小林和夫、中山俊憲、田之倉優、鈴木和男 SCG/Kj マウスにおける MPO-ANCA リスクエピソードと CD24<sup>+</sup>CD41<sup>+</sup> の発現について 第 14 回 MPO 研究会, 東京, 10 月 24-25 日, 2008.
  14. 長尾朋和、松村実美子、荒谷康昭、中山俊憲、南谷晴之、鈴木和男 MPO-ANCA による糸球体血管内皮細胞の好中球走化性因子の発現 第 14 回 MPO 研究会, 東京, 10 月 24-25 日, 2008.
  15. 常賀、長尾朋和、中山俊憲、鈴木和男 In Vitro における IVIg 治療の作用機序解析 第 14 回 MPO 研究会, 東京, 10 月 24-25 日, 2008.
  16. 郷軍、長尾朋和、前原康宏、土橋英紀、志賀由佳、河内正治、中山俊憲、鈴木和男 ARDS 病態モデルの肺組織障害に連動するサイトカインストーム開始時の TNF- $\alpha$  の役割 第 14 回 MPO 研究会, 東京, 10 月 24-25 日, 2008.
  17. Nakayama, T.: Combination therapy of *In vitro* expanded natural killer T cells and GalactosylCeramide pulsed APCs in patients with recurrent head and neck carcinoma. The Second International Cell Therapy Conference Present and Future of Cell Therapy, Seoul, Korea, 11/20, 2008.
  18. 常賀、長尾朋和、郷軍、中山俊憲、鈴木和男 In vitro における IVIg 治療の作用機序解析と判定法の確立/Modulation of endothelial cell function by intravenous immunoglobulin in vitro. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  19. Terashima, A., Inoue, S., Nakagawa, R., Sekine, E., Iwamura, C., Nakayama, T., Taniguchi, M., and Watarai, H.: 喘息発症に関与する IL-17 RB 陽性 NKT 細胞のサブセット/A novel subset of mouse iNKT cell bearing IL-17 receptor B responsible for the development of asthma. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  20. Iwamura, C., Shinoda, K., Tofukuji, S., Yamashita, M., and Nakayama, T.: Crucial role for CD69 in the pathogenesis of Th2-derived allergic airway inflammation. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  21. Shinnakasu, R., Yamashita, M., Kuwahara, M., Kitajima, M., and Nakayama, T.: Gfi1 は GATA3 蛋白質の安定化を介して Th2 細胞分化を制御する/Gfi1-mediated stabilization of GATA3 protein is required for Th2 cell differentiation. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  22. 細川裕之、Hossain, M. B., 堀内周、佐々木哲也、花澤麻美、山下政克、中山俊憲 Lymphoid enhancer factor 1 (LEF1) は GATA3 に会合しその機能を調節する/Lymphoid enhancer factor interacts with GATA3 and controls its function in T helper type 2 cells. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  23. Suzuki, A., Iwamura, C., Endo, Y., Yamashita, M., and Nakayama, T.: Polycomb group protein Ring1B regulates Th2-dependent airway inflammation through the control of Th2 cell differentiation and apoptosis. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  24. Ito, T., Hirasaki, Y., Hasegawa, A., Hosokawa, H., Motohashi, S., Yamashita, M., Ishii, Y., Taniguchi, M., Yano, I., and Nakayama, T.: BCG Tokyo-172 から分離精製した LAM/LM 分子による Human Th1 分化誘導機構/Human Th1 differentiation induced by lipoarabinomannan/lipomannan from Mycobacterium bovis BCG Tokyo-172. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  25. 郷軍、前原康宏、長尾朋和、戸高玲子、大島正道、小林和夫、志賀由佳、河内正治、中山俊憲、鈴木和男 ARDS 病態モデルの肺組織変化に連動するサイトカインストームの意義/The pathological findings of Lung involved in cytokine storm from an animal model of ARDS. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.
  26. Yamashita, M., Kuwahara, M., Onodera, A., Hosokawa, H., and Nakayama, T.: Bmi1 は Noxa 遺伝子の発現抑制を介してメモリー Th 細胞の生存を制御する/Bmi1 regulates memory CD4 T cell survival via repression of the Noxa gene. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 京都, 12 月 1-3 日, 2008.