

200934003B

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

粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御

平成 19-21 年度 総合研究報告書

主任研究者 清野 宏

平成 22 (2010) 年 3 月

—目次—

I. 構成員名簿	1
II. 総括研究報告書	
粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御 東京大学医科学研究所 感染・免疫部門 炎症免疫学分野 清野宏	3
III. 分担研究者報告書	
i) 粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御 東京大学医科学研究所 清野宏	31
ii) TLR5 の獲得免疫における役割に関する研究 大阪大学免疫学フロンティア研究センター・拠点長 大阪大学微生物病研究所 審良静男	39
iii) 花粉症における粘膜免疫と腸内フローラとの関わりについての研究： アレルギー性鼻炎モデルマウスの作製と、自然免疫系を介した気道アレルギー 治療戦略の構築 島根大学医学部耳鼻咽喉頭科 川内秀之	41
iv) 食事や腸内フローラの制御を介したアレルギー予防に関する研究 株式会社 ヤクルト本社中央研究所 基礎研究I部 部長 南野昌信	43
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	49
V. 研究成果の刊行物・別冊（主なもの）	63

I . 構成員名簿

平成19年度～21年度 免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業
粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御

構成員名簿

	氏名	職名	所属	所属施設の所在地
主任	清野 宏	教授	東京大学医科学研究所 感染・免疫部門炎症免疫学分野	〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
分担	審良 静男	拠点長 教授	大阪大学免疫学フロンティア 研究センター 大阪大学微生物病研究所 自然免疫学分野	〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 3-1
分担	川内 秀之	教授	島根大学医学部 耳鼻咽喉科教室	〒693-8501 島根県出雲市塩冶町 89-1
分担	南野 昌信	部長	株式会社ヤクルト本社 中央研究所 基礎研究 I 部	〒186-8650 東京都国立市谷保 1796

II. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
（総合）研究報告書

研究課題：粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御

研究代表者：所属機関 東京大学医科学研究所

氏 名 清野宏

アレルギーが取り込まれる呼吸器・消化器粘膜において異種抗原に対する積極的・消極的免疫応答が誘導・制御されている。この制御破綻がアレルギー発症に関与することは容易に想像がつく。つまり、粘膜面では粘膜免疫・外的環境因子（例、腸内フローラ）・アレルギーが三次元的相互作用をしているが、それに関して体系的な実験的検証を試みた例はない。清野（東大）は、16SrRNA 遺伝子クローンライブラリー法を用いて、全身系免疫組織には全く認められない *Alcaligenes* が小腸パイエル板組織内ならびに樹状細胞内に存在していることを明らかにした。この *Alcaligenes* が樹状細胞による IgA 産生増強サイトカインである IL-6 の産生を増強するという結果から、IgA 産生応答により腸管内の恒常性維持に寄与している可能性が示唆された。また、GP2 と呼ばれる分子がパイエル板 M 細胞に特異的に発現していることをマイクロアレイ解析で見だし、同分子に対するモノクローナル抗体の作製に成功した。これらの結果は、免疫の発達における腸内フローラの影響とアレルギー発症との関連において新たな機軸からの免疫制御を示唆する興味深いものである。審良（阪大）は、腸管粘膜固有層に存在する CD11c 陽性の 4 つのサブセットについて解析した。CD11c⁺CD11b⁺樹状細胞は TLR5 を特異的に発現しており、フラジェリンに反応して自然免疫応答と獲得免疫の活性化を誘導するなど、腸管での第一線の防御において重要な働きをする細胞だと考えられた。今後、分泌型 IgA を中心とした免疫を活性化するという観点から、食物アレルギーに対する粘膜ワクチンのよい標的細胞となることが考えられる。さらに CX3CR1⁺CD11c^{int}CD11b^{int} のマクロファージは IL-10 を産生し、誘導型制御性 T 細胞を強力に誘導することも明らかになった。川内（島根大）は、アレルギー性鼻炎マウスモデルを用いてアレルギー反応相における LPS の同時点鼻投与によりアレルギー性鼻炎症状が増悪することを明らかにした。また、アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法の有用な動物モデルを作製し、アレルギー性鼻炎の舌下免疫療法において、頸部リンパ節における制御性 T 細胞や抑制性サイトカインがアレルギー反応の抑制に関与している可能性が示唆された。さらに、サイトカイン療法のひとつとして、rIL-15 の点鼻投与は、アレルギー性鼻炎の治療のひとつとなりうるものと考えられた。南野（ヤクルト）は、食餌量の制限がアレルギー特異的 Th2 細胞クローンの過剰な増殖を抑え、アレルギーによる IL-4 産生誘導を抑えることから、アレルギー発症を予防する可能性を示した。食餌量の制御と腸内フローラを安定化する手法を組み合わせることで、安全で有効なアレルギー予防法が確立できる可能性が示唆された。

研究分担者：

所属機関 大阪大学微生物病研究所

氏名 審良 静男

所属機関 島根大学医学部

氏名 川内 秀之

所属機関 ㈱ヤクルト本社中央研究所

氏名 南野 昌信

A. 研究目的

アレルゲンの主要取り込み部位となり、かつ多くのアレルギー疾患の発症部位ともなっている粘膜組織においては、粘膜免疫システムと呼ばれるユニークな免疫機構が存在し、異種抗原に対する排除と寛容・共生を巧みに制御している。粘膜免疫システムの破綻がアレルギー発症に関与することが様々な研究から示されている。その一方で、これまでの研究から粘膜免疫の発達・制御に腸内フローラを始めとする外的環境因子を介した刺激が必要であることが示唆されているが、外的環境因子を介した粘膜免疫制御とアレルギー疾患との三次元的相互作用に関する体系的な実験的検証はほとんど無いのが現状である。本研究計画では、粘膜免疫(東大・清野)、自然免疫(阪大・審良)、アレルギー(島根大・川内)、腸内フローラ(ヤクルト・南野)の分野における基礎・臨床的最端的研究チームによる共同研究により、その解明にせまり、粘膜免疫を基盤とした新世代アレルギー予防・治療戦略構築への基盤確立を目指してきた。

初年度は、新規食物アレルギー予防・治療戦略の開発を目的として、食物アレルギー発症時に観察される全身系免疫システムから大腸への病原性 T 細胞の遊走において、脂質メディエーターの一つであるスフィンゴシン 1 リン酸 (S1P) 関与について解析した。また、小腸における TLR5 発現細胞を同定し [粘膜系樹状細胞 (DC)]、その獲得免疫における役割を明

らかにした。さらに、腸内フローラのアレルギーへの関与の研究として、腸管外分泌液中に多量に含まれる IgA に着目し、IgA 分泌阻止に伴う免疫防御機構の変化を解析することにより、IgA 分泌の生理的役割を追究した。

一方、花粉症における粘膜免疫と腸内フローラの関りを調べる目的で、通年性アレルギー性鼻炎およびスギ花粉症の動物モデルの作製と治療戦略の確立を試みた。抗腫瘍性溶連菌製剤として知られる OK-432 はヒト由来 A 群溶血性連鎖球菌 *Streptococcus pyogenes* 弱毒 Su 株由来の菌体成分であり、Toll-like receptor (TLR) 2 のリガンドであるペプチドグリカンや、TLR4 のリガンドであるリポタイコ酸を含んでいる。そこで OK-432 の気道や腸管でのアレルギー制御における関りについての検討を進めるために、アレルギー性鼻炎の病態を誘導相と炎症局所での反応相とに分け、外的環境因子の関りについて調べる目的で、自然免疫系において重要な役割を担う Toll-like receptor (TLR) を介した免疫応答を中心に、アレルギー性鼻炎モデルマウスを用いて検討した。

2年目は、小腸における獲得免疫誘機構を解明する目的で、粘膜系 CD11c^{hi}CD11b^{hi} DC の獲得免疫の活性化における役割を解析した。さらに、それらの細胞の TLR5 の発現および獲得免疫活性化能について検討し、TLR5 の生体での機能を明らかにした。

一方、アレルギー性鼻炎の感作、発症機序の解明や予防、治療戦略の究明には、全身における免疫機構のみならず、気道局所の粘膜免疫機構を検討することが重要であることから、ケモカイン CCL19/CCL21 に着目し、これらが鼻腔咽頭組織における T 細胞依存性アレルギー鼻炎の発症制御に関与しているか検討した。さらに、上気道におけるアレルギー

について、全身免疫および粘膜免疫の両面から解明していくにあたり、その病態を感作に関わる誘導相と反応相について、アレルギー性鼻炎モデルマウスを用いて断続的な解析を行った。アレルギー性鼻炎に対する抗原特異的免疫療法としての舌下免疫療法について、マウスを用いたモデルを作製し、その効果および作用メカニズムについても検討した。

IL-15 は粘膜免疫に関与する細胞群の増殖維持因子として重要な役割を果たしている。そこで、本研究では、粘膜面でのアレルギー反応における IL-15 の役割を調べるため、IL-15 ノックアウト (KO) マウスと野生型マウスのマウスアレルギー性鼻炎について比較検討した。

最終年度は腸管免疫において重要な免疫誘導組織として機能しているパイエル板における腸内フローラ形成とそれに関わる宿主側因子の同定、さらには宿主側因子を標的としたターゲティング分子の作製、腸内フローラを介した自然免疫シグナルを受け取り免疫制御の司令塔として機能する抗原提示細胞の各サブセットの機能解析、自然免疫シグナルを介した刺激とアレルギー症状との関連について検討を行った。

B. 研究方法

1) スフィンゴシン 1 リン酸による食物アレルギー誘導性細胞の遊走制御に関する研究

食物アレルギー発症時における脾臓 T 細胞の S1P 受容体の発現を定量的 PCR で測定した。さらに S1P 受容体の発現を抑制することが知られている免疫抑制剤 FTY720 を用い、S1P シグナルを遮断したマウスにおける食物アレルギーの発症について検討した。

2) アレルギー性鼻炎におけるリンフォイドケモカイン (CCL19/CCL21) の役割

ケモカイン CCL19 及び CCL21 欠損マウスである plt マウスおよび野生型マウスにオバルブミン (OVA) をアジュバントとともに 1 週間毎に 3 回腹腔内投与し、最後の免疫の 1 週間後から 2 週間毎日 OVA を経鼻投与した。アレルギー症状については、くしゃみと鼻搔の回数、血清中 OVA 特異的 IgE レベルとヒスタミンレベル、鼻中隔底部への好酸球の浸潤により評価した。Th2 応答がどの組織で誘導されているか調べるため、上記マウスの NALT、鼻腔、顎下リンパ節、脾臓より T 細胞を調製し、Th2 型サイトカインの産生能を調べた。また plt マウスにおけるアレルギー症状の変化の機構を調べるため、各組織における Treg 数および樹状細胞数、さらに樹状細胞の Th2 応答誘導能および Treg の Th2 応答抑制能について調べた。最後にケモカイン CCL19/CCL21 のアレルギー性鼻炎発症における役割について調べるため、plt マウスに CCL19 および CCL21 をコードするプラスミド DNA を経鼻投与し、アレルギー症状、OVA 特異的 IgE 産生応答、Treg 細胞数、樹状細胞数への変化を評価した。

3) パイエル板内に存在する常在細菌の解析

パイエル板組織における常在細菌を解析する目的でパイエル板組織を摘出し、16S rRNA クローンライブラリ法と FISH 法により腸内細菌ゲノム情報を基盤にした腸内フローラ構成・分布解析を行った。さらにパイエル板から樹状細胞を回収し、パイエル板存在細菌の樹状細胞への取り込みを解析すると共に、無菌マウスから得られた樹状細胞を用い、樹状細胞内に存在する細菌を作用させた際の免疫学的影響について検討した。

4) 腸管抗原取り込み機構解明へ向けた GP2 特異的抗体の樹立と機能解析

マウス GP2 を発現する遺伝子を強制発現した HeLa 細胞を作製し、ラットに免疫した。定法に従いハイブリドーマを作製した後、各ハイブリドーマが産生する抗体の GP2 に対する反応性を GP2 発現 CHO 細胞と非発現 CHO 細胞の反応性を比較することで決定した。作製できた GP2 抗体は Whole mount 染色法によりパイエル板をはじめとする腸管組織における反応性を確認した。

5) 腸管粘膜固有層の CD11c⁺細胞による獲得免疫の活性化に関する研究

小腸の粘膜固有層の細胞を単離し、樹状細胞マーカーである CD11c とマクロファージマーカーである CD11b で染色してフローサイトメトリー (FACS) で解析を行うと、4 群の細胞に分けられる。この 4 群の細胞のうち、どの群に TLR5 が発現しているかを調べるために、FACS sorting によりマウス小腸粘膜固有層から各群の細胞を単離し、mRNA を採取して TLR5 の発現を RT-PCR で検討した。同定した TLR5 発現細胞をフラジェリンで刺激して自然免疫応答を検討した。さらに、TLR5 発現細胞における獲得免疫の活性化能を検討した。

粘膜固有層の樹状細胞 (LPDC) の IgA 産生への寄与を解析するために、マウス腹腔から IgM⁺ B 細胞を単離し、フラジェリン存在下または非存在下に LPDC と 5 日間共培養し、IgA 産生形質細胞の分化をフローサイトメトリーで解析した。また、LPDC のヘルパー T 細胞への分化を調べるために、OT-II トランスジェニックマウスからナイーブ CD4⁺ T 細胞を単離し、フラジェリン存在下または非存在下に LPDC と 4 日間共培養した。CD4⁺ T 細胞を phorbol myristate acetate (PMA) と ionomycin で刺激し、IFN γ と IL-4 の産生をフローサイトメトリーで解析した。

6) 腸管樹状細胞サブセットにおける TLR・ケモカイン受容体の発現解析

マウス腸管から定法に従い、粘膜固有層細胞を単離し、各樹状細胞サブセットにおける CX3CR1 の発現について、CX3CR1 特異的抗体を用いたフローサイトメトリーにて発現を検討した。

7) 花粉症における粘膜免疫と腸内フローラの関り：通年性アレルギー性鼻炎およびスギ花粉症の動物モデルの作製と治療戦略の確立

マウスの Ovalbumin (OVA) に対する Th2 反応誘導モデルを作製し、OK-432 の及ぼす影響について検討を行った。卵白アルブミン (OVA) と Alum をマウスの腹腔内に投与して全身感作を成立させ、OVA を反復点鼻投与して OVA に対するアレルギー性鼻炎モデルを作製した。誘導相における OK-432 の作用についての検討では、OK-432 を OVA とともに腹腔内投与し、血清、脾臓を採取して解析を行った。また、反応相での OK-432 の作用についての検討では、OVA で全身感作を行った後、OVA とともに OK-432 を点鼻投与して解析を行った。マウスは野生型マウスに加え、TLR4 遺伝子変異マウスである C3H/HeJ マウスおよび TLR2 ノックアウトマウスを用いた。

次に、マウスアレルギー性鼻炎モデルを用い、in vivo で LPS がアレルギー性鼻炎に及ぼす影響について検討した。OVA と Alum をマウスの腹腔内に投与して全身感作を成立させ、LPS を OVA と共に点鼻して検討した。最終点鼻後に鼻症状としてくしゃみの回数を測定するとともに鼻粘膜組織、脾臓を採取して解析を行った。マウスは野生型マウス、C3N/HeJ マウスおよび肥満細胞欠損マウスである WBB6F-W/Wv マウスを用いた。

OVA を水酸化アルミニウムゲルとともにマウスの腹腔内に投与して全身感作を

行った後、OVA を反復点鼻投与して OVA に対するアレルギー性鼻炎モデルマウスも作製した。また、舌下免疫療法モデルの作製には、鎮静下でマウスの舌下粘膜へ OVA 溶液を滴下する方法を用いた。より詳細なメカニズム解明のため、舌下粘膜への抗原の投与時期をアレルギーの誘導相の前（感作前）、誘導相と反応相の間（感作後）、反応相の後（発症後）とに分けて検討した。アレルゲン最終点鼻後に血清を採取し、各種リンパ組織や鼻腔組織より細胞を単離して解析を行った。さらに、マウスアレルギー性鼻炎モデルにおける IL-15 の役割について調べるため、IL-15 ノックアウト (KO) マウスと野生型マウスのマウスアレルギー性鼻炎について比較検討した。

8) マウスアレルギー性鼻炎・花粉症モデルとヒト病態との類似性の検証

7) で述べたマウスアレルギー性鼻炎・花粉症モデルをヒトに応用させる目的で、ヒト単球細胞株 (U937) や気道粘膜上皮細胞株 (CCL30, A549) での TLR2, TLR4, TLR6, TLR9 の発現をノーザンブロット法にて検討した。

9) 分泌型 IgA の欠損による小腸上皮細胞間 T 細胞の増加機構に関する研究

IgA の分泌に必須の分子である多量体抗体受容体 (pIgR) の遺伝子を欠損するマウス (pIgR^{-/-})、TCRβ鎖遺伝子を欠損するマウス (β^{-/-})、および両者を欠損するマウス (pIgR^{-/-}β^{-/-}) を作製した。各マウスの小腸から常法に従って腸管上皮細胞間リンパ球 (IEL) を調製し、フローサイトメトリーで細胞構成を解析した。磁気ビーズ法で野生型マウス (WT) の脾臓から T 細胞を調製し、pIgR^{-/-}β^{-/-}マウスの静脈内に移入した (1 x 10⁷ cells/head)。移入後 2 週間および 4 週間の時点で小腸 IEL を調製し、フローサイトメトリーで

細胞構成を解析した。pIgR 遺伝子欠損の影響を確認するために、ELISA 法で血清の IgA レベルを測定した。

10) 摂取食餌量が気道炎症に及ぼす影響に関する研究

BALB/c マウス (雄、7 週齢および 18 週齢) に、合成飼料 (AIN-76) を自由に、または自由摂取量の 60%、80% に制限して与え、4 週間飼育した。常法に従い、卵白アルブミン (OVA) を用いて気道炎症反応を誘発した。炎症反応を評価するために、肺胞気管洗浄液 (BALF) および血清を回収し、アレルギー関連パラメーター (好酸球の集積、IL-4 レベル、OVA 特異的 IgE レベル) を測定した。免疫応答バランスへの影響を解析するために、末梢血単核細胞を調製し、抗 CD3 抗体刺激による T 細胞の IFNγ/IL-4 産生応答および OVA 特異的 IL-4 産生 T 細胞の頻度を解析した。細胞性免疫応答への影響を解析するために脾臓細胞の NK 活性を測定した。食餌量制限下で 4 週間飼育後糞便を回収し、培養法で腸内フローラの解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、遺伝子組み換え生物を用いた研究である。従って、「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」並びに「動物の愛護及び管理に関する法律」を遵守するために、国立大学法人動物実験施設協議会指針に基づき、各大学にて設置されている遺伝子組換え安全委員会及び実験動物委員会の審査を受けた上で、またその管理の下、研究活動を実施した。

C. 研究結果

1) スフィンゴシン 1 リン酸による食物アレルギー誘導性細胞の遊走制御に関する研究

脾臓 T 細胞における S1P 受容体の発現は、アレルギーの誘導過程において上昇した。この結果と相関し、食物アレルギー誘導時に FTY720 で処理をし、S1P を介したシグナルを遮断すると、全身系免疫組織で活性化された T 細胞の大腸への浸潤が阻害され、食物アレルギーの発症が抑制された。また食物アレルギーの発症が抑制されたマウスの大腸においては T 細胞に加え、マスト細胞の浸潤も阻害されていたが、血清中のアレルゲン特異的 IgE の量には変化がなかった。

2) アレルギー性鼻炎におけるリンフォイドケモカイン (CCL19/CCL21) の役割

plt マウスはコントロール野生型マウスと比較してアレルギー症状が重篤であった。これらのマウスにおいて、野生型マウスと比較して NALT および顎下リンパ節における CD8 α ⁻CD11b⁺ミエロイド系樹状細胞数と Th2 細胞数が増加し、かつ制御性 T 細胞 (Treg) の数が減少していた。野生型マウスの顎下リンパ節より調製したミエロイド系樹状細胞は、in vitro で naïve T 細胞を Th2 細胞へ分化誘導し、この応答は Treg により抑制された。plt マウスに CCL19 および CCL21 をコードするプラスミド DNA を経鼻投与するとミエロイド系樹状細胞数が減少し、OVA 特異的 IgE 産生が抑制されてアレルギー症状が抑えられた。

3) パイエル板内に存在する常在細菌の解析

16S rRNA クローンライブラリー法ならびに FISH 法を用いてパイエル板内における常在細菌を解析したところ、パイエル板内部においては *Alcaligenes* と呼ばれる菌が優勢的に存在していた。これは飼育環境によらず一定で各マウス業者から購入したマウスや異なる施設で飼育したマウスにおいて普遍的に認められた。

パイエル板から樹状細胞を回収し *Alcaligenes* の存在を調べたところ、*Alcaligenes* の一部がパイエル板樹状細胞の内部に存在していることを示唆する結果が得られた。さらに無菌マウスから得られた樹状細胞に *Alcaligenes* を作用させると、IgA 産生増強サイトカインである IL-6 の産生が増強していた。

4) 腸管抗原取り込み機構解明へ向けた GP2 特異的抗体の樹立

パイエル板には M 細胞と呼ばれる抗原取り込み細胞が存在する。吸収上皮細胞との機能的差異を検討する目的でマイクロアレイ解析を行ったところ、GP2 と呼ばれる分子が M 細胞において強く発現していることが判明した。GP2 の発現を確認する目的で、抗 GP2 抗体を作製した。新たに樹立できた抗体は細胞株に強制発現させた GP2 を認識するだけでなく、パイエル板 M 細胞に発現する GP2 を認識することが可能であった。

5) 腸管粘膜固有層の CD11c⁺細胞による獲得免疫の活性化に関する研究

TLR5 は小腸粘膜固有層の CD11c⁺CD11b⁺細胞に特異的に発現していることが明らかになった。CD11c⁺CD11b⁺細胞はフラジェリンに反応して炎症性サイトカインの産生など自然免疫反応を誘導した。さらに、T 細胞に働きかけ、TLR5 依存的に Th1 細胞に分化を誘導した。さらに、腸管粘膜固有層に存在する CD11c^{high}CD11b^{high}TLR5⁺ の LP 樹状細胞 (LPDC) がレチノイン酸を産生することによって、TLR 依存的に LP における IgA 産生形質細胞の誘導・分化や、抗原特異的な CD4⁺ヘルパー Th1 細胞と TH-17 細胞の分化誘導を制御し、腸管免疫を制御していることを明らかにした。

粘膜固有層の CD11c⁺細胞は CD11c と CD11b の発現パターンから 4 つの細胞サブセットに分かれることが明らかになっ

た。TLR5 は CD11c^{high}CD11b^{high} の LPDC にだけ特異的に発現していた。LPDC は IgA 産生形質細胞をフラジェリン刺激依存的に誘導した。さらに、LPDC はナイーブ CD4⁺T 細胞を、フラジェリン刺激依存的に Th1 細胞と Th17 細胞に分化させた。

6) 腸管樹状細胞サブセットにおける TLR・ケモカイン受容体の発現解析

腸管固有層の CD11c 陽性細胞は、2 種類の樹状細胞 (CD11c^{high}CD11b^{low} と CD11c^{high}CD11b^{high})、マクロファージ (CD11c^{int}CD11b^{int})、好酸球 (CD11c^{int}CD11b^{high}) の 4 つのサブセットからなる。管腔抗原を取り込む抗原提示細胞には CX3CR1 が発現することが知られているが、その発現細胞に関する詳細な情報は得られていない。本研究から、上記の 4 種類の CD11c 陽性細胞のうち、CX3CR1 は CD11c^{high}CD11b^{high} 樹状細胞には発現しておらず、CD11c^{int}CD11b^{int} のマクロファージに特異的に発現していることが判明した。さらに CX3CR1 陽性 CD11c^{int}CD11b^{int} マクロファージは、IL-10 を産生する抑制性のマクロファージで、誘導型制御性 T 細胞を強力に誘導した。

7) 花粉症における粘膜免疫と腸内フローラの関り：通年性アレルギー性鼻炎およびスギ花粉症の動物モデルの作製と治療戦略の確立

野生型、TLR2 ノックアウトマウスおよび TLR4 欠損 C3H/HeJ マウスから腹腔マクロファージを採取し、OK-432 により刺激すると野生型および C3H/HeJ マウス由来のマクロファージは濃度依存的に IL-12 産生が増強されたのに対して、TLR2 ノックアウトマウス由来のマクロファージでは OK-432 刺激を行っても IL-12 産生が増強されなかった。また、OK-432 を腹腔内投与されたマウスから採取されたマクロファージを培養した後、培養上清中の

IL-12 濃度を測定した結果、野生型マウスおよび C3H/HeJ マウスでは腹腔マクロファージの培養上清中の IL-12 濃度が増加していたが、TLR2 ノックアウトマウスでは IL-12 濃度の増加を認めなかった。これらの結果から、マクロファージにおける OK-432 の認識については、主に TLR2 が関与していることが示唆された。

次に、マウスアレルギー性鼻炎モデルを用いて誘導相における OK-432 の作用について検討した。抗原での全身感作成立後に血清中の抗体価を測定したところ、野生型マウスと C3H/HeJ マウスでは、OK-432 投与群で非投与群と比較して血清 OVA 特異的 IgE、IgG1 が有意に低値を示し、IgG2a は有意に高値を示した。一方、TLR2 ノックアウトマウスでは OK-432 投与群と OK-432 非投与群との間で血清中の抗体価に有意差は認められなかった。脾臓 T 細胞におけるサイトカイン産生能について検討を行ったところ、野生型マウス、C3H/HeJ マウスともに OK-432 投与群で IL-4 が有意に低値を示し、IFN- γ が有意に高値を示した。一方、TLR2 ノックアウトマウスでは OK-432 投与群と非投与群との間でサイトカイン産生に有意差は認められなかった。

反応相における OK-432 の作用について検討した。OVA 単独点鼻群と OVA/OK-432 共点鼻群とでは、アレルギー症状であるくしゃみの回数や鼻粘膜中の好酸球浸潤に有意差は認められなかった。OVA/OK-432 点鼻群において、OVA 単独点鼻群と比較して鼻粘膜組織における IL-5 発現の増強を認めた。以上の結果より、OK-432 が誘導相において TLR2 を介して単球系細胞からの IL-12 産生を誘導することにより、抗原特異的 Th2 反応を制御していることが示唆された。

次に、野生型マウスを用いた OVA に対するアレルギー性鼻炎モデルの反応相において、LPS を OVA と共に点鼻投与した

ところ、くしゃみの回数が OVA 単独点鼻群と比較して増加した。OVA/LPS 共点鼻群において、鼻粘膜組織における好酸球浸潤が OVA 単独群と比較して増加する傾向を示した。鼻粘膜における Th2 型サイトカイン発現は、OVA 単独点鼻群において IL-5, IL-10, IL-13 の発現を認め、OVA/LPS 点鼻群では OVA 単独群と比較して IL-5 の発現の増強を認めた。

次に C3H/HeJ マウスを用いて検討したところ、くしゃみの回数、鼻粘膜中の好酸球浸潤、Th2 サイトカイン発現については、OVA 単独点鼻群と OVA/LPS 点鼻群とで有意な差は認められなかった。また、肥満細胞欠損マウス (plt) を用いた検討においても、くしゃみの回数、鼻粘膜中の好酸球浸潤、Th2 サイトカイン発現に、OVA 単独点鼻群と OVA/LPS 点鼻群とで有意な差は認められなかった。以上の結果から、反応相において LPS が肥満細胞の TLR4 を介し、IL-5 発現を誘導することによりアレルギー性炎症の増悪因子として作用することが示唆された。

OVA の舌下免疫療法モデルにおいて、舌下免疫をアレルギーの誘導相の前（感作前）もしくは誘導相と反応相の間（感作後）に行った系では、PBS のみを舌下投与したコントロール群と比較してそれぞれ血清中の抗原特異的 IgE 値の有意な減少が認められたが、舌下免疫を反応相の後（発症後）に行った系では、OVA 投与群とコントロール群との間に IgE 値に有意な差は認められなかった。

感作前 OVA 舌下投与群において、脾臓および頸部リンパ節由来のリンパ球からの Th2 サイトカイン産生がコントロール群と比較して有意に抑制された。感作前 OVA 舌下投与群の頸部リンパ節において、CD4 陽性 CD25 陽性制御性 T 細胞の数や頻度にはコントロール群と比較して有意な差を認めなかったが、Foxp3 や IL-10 の mRNA の有意な発現上昇が認められた。こ

れらの結果から、アレルギー性鼻炎の舌下免疫療法において、頸部リンパ節における制御性 T 細胞や抑制性サイトカインがアレルギー反応の抑制に関与している可能性が示唆された。

OVA 感作後の IL-15 欠損マウスにおける OVA 特異的 IgE 量及び脾臓における Th1/Th2 応答は、野生型マウスと比較して有意差はなかった。感作マウスにおける OVA 点鼻後の症状は、IL-15 欠損マウスで増悪しており、鼻粘膜への好酸球浸潤も亢進していた。野生型マウス骨髄由来肥満細胞 (BMMC) と IL-15 欠損マウス由来 BMMC では、FcεR 及び CD117 の発現に差は認められなかったが、IL-15 欠損マウス由来 BMMC で脱顆粒率が高く、リコンビナント IL-15 を添加することで野生型マウスおよび IL-15 欠損マウス由来いずれの BMMC でも脱顆粒が抑制された。

更に OVA で感作した野生型マウスに OVA と共にリコンビナント IL-15 を点鼻投与したところ、症状および鼻粘膜への好酸球浸潤が抑制された結果より、IL-15 は鼻粘膜局所の実効相における Th2 反応を抑制することにより、アレルギー反応を制御しているものと考えられた。さらに、IL-15 は肥満細胞の脱顆粒を抑制することにより、鼻アレルギー症状を制御している可能性も示唆された。

8) マウスアレルギー性鼻炎・花粉症モデルとヒト病態との類似性の検証

野生型である C3H/HeN マウスでは、アレルギー反応相における LPS の同時点鼻投与により、くしゃみの回数、好酸球浸潤、Th2 型サイトカイン産生の増強が観察された。これらの LPS の影響は TLR4 欠損マウスでは認められなかった。またノーザンブロット法にて各ヒト由来細胞株で様々な TLR の発現を調べたところ、ヒト単球の細胞株 (U937) では TLR2, TLR4, TLR6, TLR9 のいずれも発現し

ていたが、気道粘膜上皮細胞の細胞株 (CCL30, A549) では、LPS 刺激で誘導的に TLR2, TLR3, TLR6 を発現してくるが、TLR4, TLR9 については発現を認めなかった。また培養ヒト鼻粘膜上皮細胞における検討結果では、mRNA レベルでも TLR4 に特異的な遺伝子発現を認めなかった。

9) 分泌型 IgA の欠損による小腸上皮細胞間 T 細胞の増加機構に関する研究

pIgR^{-/-}マウスは IgA の分泌が阻止されており、血中 IgA レベルが著しく高まっていた。また、pIgR^{-/-}マウスは WT マウスに比べて小腸 IEL が多く、Thy-1⁺CD8 α ⁺ α β IEL の増加が著しかった。一方、無菌 pIgR^{-/-}マウスは通常の pIgR^{-/-}マウスに比べて血中 IgA レベルが 10 分の 1 程度に低下し、小腸における Thy-1⁺CD8 α ⁺ α β IEL の増加は見られないことが既に明らかにされている。次に、pIgR の欠損は Thy-1⁺CD8 α ⁺ α β IEL を選択的に増加させるか否かを検討するために、pIgR^{-/-} β ^{-/-}マウスの IEL を解析した。その結果、pIgR^{-/-} β ^{-/-}マウスの IEL 数は WT マウスや β ^{-/-}マウスと差がなく、pIgR^{-/-} β ^{-/-}マウスと β ^{-/-}マウスの IEL 構成 (~85%が γ T 細胞) には差がみられなかった。さらに、WT マウスの脾臓から調製した T 細胞 (>95%は α β T 細胞) を pIgR^{-/-} β ^{-/-}マウスに移入したところ、2 週間後、4 週間後には IEL 数が増加し、小腸上皮細胞間に α β T 細胞 (~70%が Thy-1⁺CD8 α ⁺ α β T 細胞) が検出された。

10) 摂取食餌量が気道炎症に及ぼす影響に関する研究

食餌量を自由摂取量の 60% に制限することにより、末梢血単核細胞に占める B 細胞の割合が減少し T 細胞の割合が増加した。また、T 細胞を抗 CD3 抗体で刺激したところ、食餌量制限により IFN- γ 産生が減少し IL-4 産生が増加した。

次に、食餌量の制限がアレルギー発症に及ぼす影響を調べるために、7 週齢のマウスを OVA で免疫後再度 OVA を経鼻投与して気道炎症を誘発した。その結果、食餌量を 80% および 60% に制限すると、制限の程度に依存して OVA の経鼻投与で誘発される気道炎症反応が改善し (BALF に回収される好酸球の減少、血清中 IgE レベルの低下)、BALF 中の IL-4 レベルの低下が観察された。

食餌量制限によるアレルギー発症の抑制に及ぼす加齢の影響を探るために、同様な実験を 18 週齢のマウスで行った。その結果、摂取食餌量を 60% に制限すると、18 週齢のマウスでも同様にアレルギー症状の抑制が認められた。

アレルギー抑制の機序を調べるために、自由摂取マウスおよび食餌量制限マウスの末梢血から T 細胞を精製し、抗原提示細胞の存在下で、OVA で刺激した。その結果、食餌量制限により OVA 特異的 IL-4 産生が低下し、OVA 特異的 IL-4 産生 T 細胞の頻度が食餌量制限により減少することがわかった。

食餌量制限の副作用を検討するために脾臓の NK 活性に及ぼす影響を調べた。その結果、7 週齢のマウスでは食餌量制限により脾臓 NK 活性が有意に低下したが、18 週齢のマウスでは NK 活性の低下は見られなかった。また、7 週齢のマウスでは食餌量制限により一過性に血便が観察されたが、18 週齢のマウスでは血便は見られなかった。最後に、食餌量制限が腸内フローラに及ぼす影響を調べたところ、7 週齢のマウスでは食餌量を 60% に制限することにより Lactobacillus 属の低下が見られたが、18 週齢のマウスではこれらの変化は見られなかった。

D. 考 察

新規食物アレルギー予防・治療戦略の開発を目的として行われた研究により、

いくつかの学術的に非常に重要であるのみならず、アレルギー予防・治療戦略の樹立において有効な基盤となる知見が得られた。

まず、アレルギー誘導性 T 細胞やマスト細胞などの遊走が脂質メディエーター (S1P) により制御されていることが示された。T 細胞の遊走においては、S1P 受容体の発現と相関することから、S1P が T 細胞に直接的に作用することが示唆された。一方、マスト細胞の遊走制御においてはマスト細胞が S1P 受容体を発現することに加え、マスト細胞の制御を行う IL-5 などの産生抑制も観察されたことから直接的作用と二次的作用の両方が関与していると考えられる。今後は、マスト細胞の S1P 依存的遊走制御機構の解明、ならびに食物アレルギー発症における T 細胞とマスト細胞の依存性の検討が重要であると考えられる。

小腸パイエル板内に存在する常在細菌を解析することにより、*Alcaligenes* がパイエル板に認められ、その存在はパイエル板以外の絨毛部位には認められなかったことから、パイエル板に何らかの特異的取り込み機構が存在することが示唆された。*Alcaligenes* がパイエル板に特異的に存在し、かつその一部は樹状細胞に取り込まれ、IgA 産生をはじめとする腸管免疫の発達に関わっているという今回の知見は、粘膜免疫系の誘導・制御さらに発達における腸内フローラの影響とアレルギー発症との関連において新たな機軸からの免疫制御を示唆する興味深いものである。

本研究において樹立することが出来た GP2 特異的抗体を用いることで、パイエル板 M 細胞を標的とした経口免疫寛容を利用したアレルギー粘膜免疫療法の開発へと発展させることが出来ると期待される。近年、特に乳幼児期における免疫系の発達とアレルギー発症との関連が強く

示唆されていることから、今後は *Alcaligenes* を始めとする腸内フローラの形成とその取り込みに関わる GP2 陽性 M 細胞や抗原提示細胞群の分化、さらにはそれに引き続く免疫応答について、乳幼児期における粘膜免疫系の発達とアレルギー疾患との関連を含めて詳細に解明していくことが最も重要な検討課題であると考えられる。

腸内フローラを介した刺激を認識し免疫応答を制御する抗原提示細胞については、これまでいくつかのサブセットが知られていた。そのうちのひとつとしてケモカイン受容体である CX3CR1 を発現する細胞は腸管管腔の抗原を補足することが示唆されていた。今回の研究から、CD11c^{int}CD11b^{int} のマクロファージが CX3CR1 を特異的に発現し、また IL-10 を高産生することで誘導型制御性 T 細胞を強力に誘導することが示唆された。このことは管腔抗原の取り込みから処理・提示のプロセスにおいては、GP2 発現 M 細胞を介したパイエル板への取り込み経路と CX3CR1 発現 CD11c^{int}CD11b^{int} マクロファージを介した経路の関与が示唆され、その連携など今後の検討が期待される。さらには本研究から TLR を介した刺激がアレルギー疾患の制御において重要であることも示されたことから、各取り込み経路の違いとそこから生じる自然免疫応答の差異、さらにはアレルギー疾患との関連について、腸内フローラの種類の違いも含め、今後さらなる解明が必要であると考えられる。

小腸の粘膜固有層には 2 種類の樹状細胞とマクロファージ、好酸球が存在している。TLR5 は CD11c⁺CD11b⁺ 樹状細胞に特異的に発現していた。腸管では免疫を抑制する細胞は多数知られている。しかし、この細胞はフラジェリンに反応して自然免疫応答と獲得免疫の活性化を誘導することが明らかになった。腸管での第一線

防御において重要な働きをする細胞だと考えられる。今後、免疫を活性化するという観点から、アレルゲンに対する分泌型 IgA 誘導が可能な粘膜ワクチンのよい標的細胞となることが考えられるであろう。

分泌型 IgA 形成に不可欠な pIgR が欠損している pIgR^{-/-}マウスでは、IgA の分泌が阻止され、IEL の特定のサブセット (Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β T 細胞) が選択的に増加することが明らかになった。一方、無菌 pIgR^{-/-}マウスの小腸では Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β IEL の増加が見られないことから、腸内細菌の刺激が Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β IEL の増加を誘導すると考えられた。さらに、脾臓 T 細胞の移入実験の結果は、pIgR^{-/-} β ^{-/-}マウスでは選択的に Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β T 細胞を小腸上皮細胞間に移行させる機構が増強していることを示唆している。これまでに、腸管上皮細胞はさまざまな細胞を遊走させる因子を産生することが知られており、今後は WT マウスと pIgR^{-/-}マウスの小腸粘膜の機能を比較することが重要である。また、IgA の欠損と炎症性腸疾患やセリアック病との関連が提示されており、pIgR^{-/-}マウスに見られる Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β IEL の選択的増加が腸粘膜の炎症と関連するかどうかを検討することは興味深い。

以上より、アレルゲンの侵入に恒常的に暴露されている腸管粘膜において、脂質メディエーター、TLR2、TLR5 そして pIgR が、アレルゲンを含めた抗原特異的免疫応答誘導に深く関わっている事を強く示唆する結果を得た。また、それら各種レセプターを介した制御をすることでアレルゲン特異的免疫応答を自然免疫誘導相・獲得免疫誘導相の両相でコントロールできる可能性も示唆された。

アレルギー性鼻炎の感作、発症機序の解明や予防、治療戦略の究明には、全身

における免疫機構のみならず、気道局所の粘膜免疫機構を検討することが重要である。まず、リンパ球系ケモカイン CCL19 および CCL21 は、NALT および 顎下リンパ節において、Th2 型応答を誘導する CD8 α ⁻CD11b⁺ミエロイド系樹状細胞の数を制御することによって Th2 型の応答を抑制し、上気道におけるアレルギー応答の抑制維持に関与していることが示された。マウスアレルギー性鼻炎モデルを用いた検討により、OK-432 が誘導相において TLR2 を介して単球系細胞からの IL-12 産生を誘導することにより、抗原特異的 Th2 反応を制御していることが示唆された。

一方で、反応相においては抑制的に作用する結果は認められなかった。興味深いことに、OVA/OK-432 共点鼻群では OVA 単独点鼻群と比較して鼻粘膜組織での IL-5 発現が増強されており、その詳細については今後追究していく必要があると思われる。臨床的には、生後早期からアレルゲンへの曝露により感作が成立するまでの過程において、OK-432 を投与することにより Th2 反応を抑制することが期待され、ヒトでのアレルギー性疾患に対する予防的治療としての可能性が示された。

LPS を用いた検討により、反応相において LPS が肥満細胞の TLR4 を介して、IL-5 発現を誘導することによりアレルギー性炎症の増悪因子として作用することが示唆された。今後、TLR4 ノックアウトマウスを用いて実験をすすめるとともに、TLR4 を介したシグナル伝達につき詳細を検討していく予定である。現在 in vitro での検討により、p38 および GATA3 が関与する結果を得ており、今後検討をすすめる。また、LPS 点鼻によりくしゃみが増加することから、in vivo において LPS がヒスタミンの遊離にどのような影響を及ぼすのかも今後の検討課題である。

マウスを用いてアレルギー性鼻炎に対

する舌下免疫療法の動物モデルを作製した。OVA をアレルギー性鼻炎の発症前（感作前もしくは感作後）に舌下投与することでアレルギー反応が抑制され、舌下免疫療法の動物モデルとして有用であることが示された。今後、ヒトでのアレルギー性鼻炎（特に花粉症）の病態により近付けた舌下免疫療法モデルの作製を目指し、抗原の種類や投与プロトコールなどにさらなる検討が必要である。

また、アレルギー性鼻炎の舌下免疫療法のメカニズムとして、頸部リンパ節における制御性 T 細胞や抑制性サイトカインがアレルギー反応の抑制に関与している可能性が示唆された。アレルギー性鼻炎の舌下免疫療法における制御性 T 細胞の役割、作用メカニズムについて更なる詳細な解析を進めるとともに、ヒトの検体を用いてその裏付けを行う必要があると考えられる。

IL-15 は、鼻粘膜局所の実効相における Th2 反応を抑制することにより、アレルギー反応を制御しているものと考えられた。更に IL-15 は肥満細胞の脱顆粒を抑制することにより、鼻アレルギー症状を制御しているものと考えられた。rIL-15 の点鼻投与は、アレルギー性鼻炎の治療のひとつとなりうるものと考えられた。

マウスモデルを用いて、食餌量の制限が気道炎症を軽減することを示した。近年、臨床試験で摂取カロリーの制限がアレルギー症状を改善することが報告されており、本研究の結果はそれらの結果を支持している。しかしながら、若齢期の食餌量制限は腸内フローラを不安定化し、腸管バリアーを脆弱化するリスクがある。今後は、食餌量の制御と腸内フローラを安定化する手法を組み合わせることにより、安全で有効なアレルギー予防法を検討する必要がある。

E. 結論

1) スフィンゴシン 1 リン酸による食物アレルギー誘導性細胞の遊走制御に関する研究では、脂質メディエーターである S1P とその受容体 (S1P1) を介したシグナルを阻害することで食物アレルギー発症を抑制する結果を得た。この成果をもとに、同実験を中心に推進した東京大学医科学研究所 國澤純博士が厚生労働科学研究費補助金 免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業に採用され、独立した研究を展開する支援体制が出来た事は、特記すべき成果である。

2) CCL19 および CCL21 は、気道系アレルギーの制御において制御性ケモカインとして働いていることが示され、これらケモカインを用いた樹状細胞の遊走制御がアレルギー性鼻炎治療の新しい戦略となり得ることが示された。

3) 本研究において、パイエル板の内部に *Alcaligenes* と呼ばれる菌が優勢的に存在しているという新知見が得られた。

4) パイエル板に存在する抗原取り込み細胞である M 細胞に特異的に発現している GP2 が同定された。

5) 腸管粘膜固有層に存在する CD11c⁺細胞は TLR5 を発現し、フラジェリンにより活性化され Th1 応答誘導能があり、粘膜免疫の要である IgA と Th1 型細胞誘導両方に重要であることが明らかとなり、その細胞を標的としたアレルギー制御の可能性を提示した。さらに同 DC 群は、CD4⁺T 細胞に作用してフラジェリン刺激依存的に Th1 細胞だけでなく Th17 細胞を誘導することも明らかとなった。

6) CD11c^{int}CD11b^{int} のマクロファージが抗原取り込みに関与する細胞に発現するこ

とが示唆されている CX3CR1 を特異的に発現し、また IL-10 を高産生することで誘導型制御性 T 細胞を強力に誘導することが示された。

7) 細菌由来の TLR リガンド分子がアレルギー反応の増悪に関与する可能性が示唆された。例えば、溶連菌製剤 OK-432 がアレルギー性鼻炎の誘導相において、TLR2 を介して単核球を活性化し、IL-12 産生を通して Th2 反応を抑制することが示唆された。

LPS がアレルギー性鼻炎の反応相において、肥満細胞の TLR4 を介して IL-5 発現を誘導することにより、アレルギーの増悪因子として作用することが示唆された。

8) アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法の有用な動物モデルを作製した。アレルギー性鼻炎の舌下免疫療法において、頸部リンパ節における制御性 T 細胞や抑制性サイトカインがアレルギー反応の抑制に関与している可能性が示唆された。また、サイトカイン療法のひとつとして、rIL-15 の点鼻投与は、アレルギー性鼻炎の治療のひとつとなりうるものと考えられた。

9) 分泌型 IgA の欠損による小腸上皮細胞間 T 細胞の増加機構に関する研究から、同抗体の新しい機能が示唆された。pIgR^{-/-}マウスでは Thy-1⁺CD8 $\alpha\beta$ ⁺ $\alpha\beta$ IEL が選択的に動員されることから、過剰な Thy-1⁺CD8 $\alpha\beta$ ⁺ $\alpha\beta$ IEL の増加を抑え、腸管機能の恒常性を維持することが分泌型 IgA の生理的役割の一つと考えられる。また、本研究の結果は、腸管粘膜防御機構を構成するさまざまな要素は相互に補い合って腸管の防御を担うことを示している。

10) 食餌量の制限がアレルギー発症を予防する可能性が示された。作用機序の一つとして、食餌量の制限がアレルギー特異的 Th2 細胞クローンの過剰な増殖を抑え、アレルギーによる IL-4 産生誘導を抑えることが考えられた。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表：176 件

原著論文による発表：4 件

それ以外（レビュー等）の発表：24 件

そのうち主なもの：

論文発表（国内）

川内秀之：アレルギー性鼻炎の制御に向けた治療戦略の確立。臨床免疫・アレルギー科。47：444-451。2007。

川内秀之：スギ花粉症緩和剤による経口免疫寛容の誘導とスギ花粉症抑制の試み。Japan Allergy Foundation Kyusyu Branch。11:5。2007。

高村 薫、川内秀之：アレルギー性鼻炎における T 細胞応答の制御に関する CCR7 リガンドの機能。耳鼻咽喉科免疫アレルギー。25：152-153。2007。

川内秀之：花粉症の予防と治療戦略。日本医師会雑誌。136：1975-1979。2008。

青井典明，吉開泰信，川内秀之：サイトカインによるアレルギー治療。耳鼻咽喉科展望 51 (Suppl. 1)：43-47。2008。

川内秀之，青井典明，片岡真吾，村田明道，山田高也：アレルギー性鼻炎・花粉症の病態解明と治療戦略の確立 一環境

衛生仮説から遺伝子治療まで一. 耳鼻咽喉科展望 51(1) : 8-25. 2008.

高岩文雄, 川内秀之 : 特集『健康食品とアレルギー』 スギ花粉症緩和米の開発. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー 26(3) : 233-237. 2008.

川内秀之 : 特集/増加するアレルギー疾患の治療 免疫療法. 臨床と研究 85(2) : 58-65, 2008.

清水保彦, 片岡真吾, 青井典明, 村田明道, 木村光宏, 佐野千晶, 佐野啓介, 川内秀之 : スギ花粉症におけるロイコトリエン受容体拮抗薬 (プラナルカスト) の有用性の検討. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー 26(1) : 23-29, 2008.

川内秀之, 青井典明, 清水保彦, 合田薫, 佐野千晶, 片岡真吾, 山田高也 : アレルギー治療薬の免疫修飾作用に関する基礎的検討. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー 26(2) : 142-143, 2008.

南野 昌信 : 経口免疫寛容の誘導と腸内細菌. 感染炎症免疫 38(19) : 70-72. 2008.

南野 昌信 : I. 食物アレルギーの概念 2. 経口免疫寛容と腸管免疫、食物アレルギーの治療と管理 pp. 12-21. 2008.

合田 薫, 清野 宏, 川内秀之 : アレルギー性鼻炎モデルマウスにおける舌下免疫療法の治療効果および作用メカニズムの解明へむけて. 口腔・咽喉科 22(1) : 31-33. 2009.

佐藤あゆ子, 清野宏 : 粘膜免疫を基盤とした次世代アレルギー制御戦略 日本臨床 67(11) : 2194-2199. 2009.

佐藤あゆ子, 清野宏 : 新規アレルギー制御戦略としての粘膜免疫分子機構 ミノファーゲンメディカルレビュー 55(1) : 1-8. 2009.

学会発表 (国内)

Gohda M, Kunisawa J, Kurashima Y, Higuchi M, and Kiyono H. Different development stages of Peyer's patch B cells show distinct for their trafficking into the intestinal lamina propria. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, November 21th, 2007.

Kurashima Y, Kunisawa J, Gohda M, Higuchi M, Takayama N, and Kiyono H. Direct and indirect regulatory pathways for sphingosine 1-phosphate-mediated gut tropic mast cell trafficking for the control of intestinal hypersensitivity. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, November 21th, 2007.

審良静男. 自然免疫による病原体認識. 第81回日本感染症学会. 京都. 2007年4月10日

Akira S. The role of TLRs and RIG-I-like helicases in anti-viral responses. 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 東京, November 20th-22th, 2007.

Kawauchi H. スギ花粉症の治療戦略ーガイドラインを中心にー. 倉敷医師会学術講演会, Kurashiki, January 16th, 2007.

Takamura K, and Kawauchi H., et al. アレルギー性鼻炎における T 細胞応答の制御に関する CCR7 リガンドの機能. 第25

回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会,
Kouhu, March 30th, 2007.

Kawauchi H. Treatment: animal models.
World Immune Regulation Meeting, Davos,
Switzerland, April 13th, 2007.

Kawauchi H. 鼻アレルギー・花粉症の病
態と治療. 第108回日本耳鼻咽喉科学会
総会・学術講演会, Kanazawa, May 17th,
2007.

Kawauchi H. 上気道炎症性疾患の病態に
おける Toll 様受容体の役割. 第5回京阪
神耳鼻咽喉科臨床懇話会, Oosaka, June
23th, 2007.

Aoi N, and Kawauchi H., et al. アレル
ギー性鼻炎の病態における肥満細胞の役
割と細菌感染による修飾 (肥満細胞の機
能発現における Toll-like receptor の関
与). 第8回中四国耳鼻咽喉科アレルギー
疾患研究会, Takamatsu, July 21th, 2007.

Kawauchi H. アレルギー性鼻炎・花粉症.
第32回日本アレルギー学会専門医教育
セミナー, Tokyo, August 26th, 2007.

Kawauchi H. スギ花粉症の病態と治療戦
略—アレルギー性炎症の制御に向けた最
新の話題. 第9回宮崎県耳鼻咽喉科懇話
会, Miyazaki, September 13th, 2007.

Aoi N, and Kawauchi H., et al. サイト
カインによるアレルギー制御. 第31回日
本医用エアロゾル研究会, Asahikawa,
September 22th, 2007.

Kawauchi H. 鼻アレルギー制御のための
粘膜免疫の臨床応用. 第57回日本アレル
ギー学会秋季学術大会, Yokohama,
December 1th, 2007.

Kawauchi H. スギ花粉症の病態と治療戦
略. 第5回熊本耳鼻咽喉科アレルギー研
究会, December 28th, 2007.

小幡高士, 後藤義幸, 國澤純, 佐藤慎太
郎, 柴田奈緒子, 梅崎良則, 辨野義己,
清野宏: パイエル板共生細菌の発見およ
び宿主粘膜系との共生的相互作用機構の
解明. 第38回日本免疫学会総会・学術
集会, 国立京都国際会館, 2008年12月3
日

Pontes Gemilson Soares, 吉田理人, 野
地智法, 長谷耕二, 大野博司, 寺原和孝,
幸義和, 清野宏: Glycoprotein 2 はパイ
エル板 M 細胞の管腔膜に特異的に発現し
ているが、絨毛 M 細胞には発現してい
ない. 第38回日本免疫学会総会・学術集
会, 国立京都国際会館, 2008年12月3
日

審良静男: TLR と免疫疾患. 第13回シ
ェーグレン症候群セミナー, 東京,
May. 17th, 2008.

審良静男: 自然免疫における病原体認識
とシグナル伝達. 日本分子生物学会第8
回春季シンポジウム, 北海道,
May. 26-27, 2008.

審良静男: 自然免疫システムと腸管免疫.
神戸免疫アレルギー談話会 第20回記
念 特別講演会, 兵庫, June. 5, 2008.

審良静男: 自然免疫システムとアレルギ
ー. 第20回日本アレルギー学会春季臨
床大会, 東京, June. 12-13, 2008.

審良静男: 自然免疫: 病原体認識とシグ
ナル伝達. 第12回京都分子血液フォー
ラム, 京都, June. 21, 2008.