

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）
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
分担研究者：所属機関 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自然免疫学・教授
氏名 審良 静男

A. 研究目的

我々は細菌のフラジェリンを認識する Toll-like receptor 5 (TLR5) が腸管粘膜固有層の CD11c^{hi}CD11b^{hi} 樹状細胞に特異的に発現しており、自然免疫応答を誘導するとともに、液性免疫、細胞性免疫の誘導にも必須の役割を果たすことを報告した。過去の報告によると、粘膜固有層にはケモカイン受容体の CX3CR1 を発現し、上皮細胞間隙から抗原を取り込み免疫応答を惹起する樹状細胞が存在しているという報告があった。今回、CX3CR1 が CD11c^{hi}CD11b^{hi} 樹状細胞に発現しているかを検討した。

B. 研究方法

マウス腸管から粘膜固有層細胞を単離し、CX3CR1 の特異的抗体によってフローサイトメトリーにて発現を検討した。

C. 結果

LP の CD11c⁺細胞は、2種類の樹状細胞 (CD11c^{hi}CD11b^{low} と CD11c^{hi}CD11b^{hi})、マクロファージ (CD11c^{int}CD11b^{int})、好酸球 (CD11c^{int}CD11b^{hi}) の4つのサブセットからなる。CX3CR1 は CD11c^{hi}CD11b^{hi} 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た。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。

D. 考察

以前より、腸管管腔の抗原を捕捉する CX3CR1 陽性の樹状細胞が存在していることが報告されていた。しかしながら、今回の解析により粘膜固有層の CX3CR1 陽性細胞は樹状細胞ではなく、マクロファージであることが分かった。機能解析から、これらのマクロファージは抑制性の機能を有しており、腸管管腔の抗原を捕捉して免疫寛容を誘導していることが考えられ、アレルギー制御に応用性が考えられる経口免疫寛容の解明に繋がる成果である。

E. 結論

腸管粘膜固有層の CD11c^{hi}CD11b^{hi} 樹状細胞には CX3CR1 は発現しておらず、CD11c^{int}CD11b^{int} の抑制性マクロファージに特異的に発現していることが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表：12 件

原著論文による発表：63 件

それ以外（レビュー等）の発表：10 件

審良静男. 自然免疫と自己免疫病. 第2
1 回日本アレルギー学会春季臨床大会.
岐阜. 2009 年 6 月 4 日

論文発表 (海外)

Matsushita K, Takeuchi O, Standley DM, Kumagai Y, Kawagoe T, Miyake T, Satoh T, Kato H, Tsujimura T, Nakamura H, and Akira S. Zc3h12a is an RNase essential for controlling immune responses by regulating mRNA decay. Nature 30;458(7242):1185-90. 2009.

Kawagoe T, Takeuchi O, Takabatake Y, Kato H, Isaka Y, Tsujimura T, and Akira S. TANK is a negative regulator of Toll-like receptor signaling and is critical for the prevention of autoimmune nephritis. Nat. Immunol. 10:965-72. 2009.

Akira S. Innate immunity to pathogens: diversity in receptors for microbial recognition. Immunol. Rev. 227(1):5-8, 2009.

Paveglio SA, Allard J, Foster Hodgkins SR, Ather J, Bevelander M, Mayette Campbell J, Whittaker Leclair LA, McCarthy SM, van der Vliet A, Suratt BT, Boyson JE, Uematsu S, Akira S, Poynter ME. Airway Epithelial Indoleamine 2,3-Dioxygenase Inhibits CD4+ T Cells During Aspergillus fumigatus Antigen Exposure. Am. J. Respir. Cell. Mol Biol. 2010.

学会発表 (海外)

Akira S. "TLRs and Inflammation." Keystone Symposia Conference: Pattern Recognition Molecules and Immune Sensors of Pathogens. Canada. Mar. 29, 2009.

H. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得
出願中
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

研究課題：粘膜系自然・獲得免疫によるアレルギー制御

分担研究者：所属機関 島根大学医学部耳鼻咽喉科 教授

氏名：川内秀之

A. 研究目的

1) マウスアレルギー性鼻炎モデルでの舌下・嚥下免疫療法の機序の解明

舌下・嚥下免疫療法の機序を解明するため、マウスアレルギー性鼻炎モデルを用いて検討をおこなった。

2) 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

我々は、マウスアレルギー性鼻炎・スギ花粉症モデルの病態の中で、過敏性の亢進における肥満細胞と好酸球の役割について検討してきた。これまで、TLR とそのリガンドの観点から誘導相における Th1 inducer である OK432 の影響と反応相における LPS の影響について検討してきた。今回は TLR2 や TLR4 遺伝子を欠損したマウスを用いて検討した。

3) ヒト気道粘膜における TLR の発現

上気道粘膜での TLR の発現とアレルギーや感染防御における関与を検討する目的で、ヒト気道粘膜における TLR の発現を調べた。

B. 研究方法

1) マウスアレルギー性鼻炎モデルでの舌下・嚥下免疫療法の機序の解明

卵白アルブミン(OVA)の腹腔内投与による全身免疫後、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を作製した。舌下免疫療法モデルの作製には麻酔下で舌下粘膜へ OVA を滴下する方法を用いた。またマウスの CCL19, CCL21 の cDNA をコードするプラスミドを作製し、アレルギー

性鼻炎に対する抑制効果を検討した。

2) 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

実験プロトコールは、Day0 と 7 に Alum を用いた OVA の腹腔内投与により全身感作したマウスから、Day14 に血清を採取し ELISA 法にて OVA 特異的抗体価を測定した。Day21 から 28 まで、OVA および LPS の点鼻を行い、最終点鼻直後より 5 分間くしゃみの回数を測定し、鼻粘膜組織を採取して組織学的検討を行った。OK432 は day0, 7 に 100 μ g 腹腔内投与した。

3) ヒト気道粘膜における TLR の発現

ノーザンブロット法にてヒトの単球の細胞株 (U937) では TLR2, TLR4, TLR6, TLR9 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 刺激で構成的に 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 (PCR 法では、気道粘膜上皮細胞株において TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6 に特異的な mRNA の発現を認めている)。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 TLR-4 に特異的な遺伝子発現を認めなかった。

C. 結果

1) マウスアレルギー性鼻炎モデルでの舌下・嚥下免疫療法の機序の解明

OVA 投与群では、いずれの投与時期においても、血清特異的 IgE 抗体の有意な低下を認

めた。また、OVA 舌下投与群では、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有意に抑制された。これらのリンパ節ではCD4+CD25+ T細胞数の増加は認めないものの、本細胞群のFoxp3 およびIL-10 特異的な mRNA の発現増強が認められた。OVA と CCL19/CCL21 プラスミドを同時投与した際には、脾臓のCD4 陽性 T細胞からのTh2型サイトカイン (IL-5) 産生の抑制効果の増強を認めた。

2) 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、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。しかしながら、TLR2欠損マウスでは、2群間で有意差を認めなかった。脾臓T細胞におけるサイトカインは野生型のC3H/HeNマウスではOK432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ていたが、TLR2欠損マウスでは、2群間で有意差を認めなかった。さらに、TLR4欠損マウスでは、野生型マウスで認められた反応相におけるLPSの同時点鼻投与の影響（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）が有意に認められなかった。

E. 結論

1) マウスアレルギー性鼻炎モデルでの舌下・嚥下免疫療法の機序の解明

マウスアレルギー性鼻炎モデルにおいて、舌下免疫療法が有効な治療手段となりうることを確認した。さらに、その機序について、炎症局所における制御性T細胞が重要であることを証明した。現在、アレルゲンの投与ルートによる抑制効果の違いやCCL19やCCL21による制御性T細胞制御を介した機序について更なる検討を加えている。

2) 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

OK432が誘導相においてTLR2を介して単球系細胞よりIL-12産生を誘導することにより、抗原特異的Th2応答を制御していることが示唆された。さらに、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。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表：10 件

原著論文による発表：0 件

それ以外（レビュー等）の発表：0 件

そのうち主なもの：

論文発表（国内）

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

学会発表（国内）

頓宮美樹，山田高也，合田 薫，清水保彦，佐野千晶，川内秀之：マウスを用いたアレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法の治療効果および作用メカニズムについての検討。第17回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会，千葉市，2009年2月13日

2) 海外

口頭発表：0 件

原著論文による発表：0 件

それ以外（レビュー等）の発表：0 件

そのうち主なもの：

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

出願中

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

研究分担者：南野 昌信

(株)ヤクルト本社中央研究所 基礎研究 I 部 部長

研究要旨

多量体抗体受容体を欠損するマウスでは小腸の $\text{Thy-1}^+\text{CD8}\alpha\beta^+\text{TCR}\alpha\beta^+$ 細胞が選択的に増加することから、分泌型 IgA が腸管の炎症を抑制する可能性が考えられた。自由摂取マウスと食餌量制限マウスに気道炎症を誘導したところ、摂取食餌量を 60%に制限すると肺胞洗浄液に浸潤する好酸球が有意に減少し血清 IgE の上昇が抑えられることから、食餌量制限はアレルギー発症を予防することが明らかとなった。プロバイオティクスは腸内フローラを正常化しアレルギー反応を軽減することが期待されるが、常在性腸内フローラとプロバイオティクスの有効性の関連を明確にすることが必要であると考えられた。

A. 研究目的

腸管免疫系は粘膜最前線における生体防御機構である。ヒトの腸内には 500 種 100 兆個の腸内細菌が存在し、腸管免疫系は腸内フローラとの共生関係により発達すると考えられている。近年になり、腸内フローラが健康や疾患と密接に関係することが明らかにされつつある。しかしながら、腸内フローラに対する腸管免疫系の応答は、単一の抗原に対する特異的な免疫応答とは様相を異にする。したがって、腸内フローラに対する腸管免疫系の適応機構を明らかにすることにより、これまでの免疫機構の理解を超えて腸管独自の炎症抑制機構が解明され、新たなアレルギー予防法の開発につながることを期待される。

アレルギーは、免疫機構が破綻し無害な外来抗原に対する免疫応答が過剰に誘導された結果、自己の組織を傷害する疾患である。したがって、本来腸管免疫系に備わっている免疫制御機構の回復・維持によりアレルギーを予防できる可能性がある。一方、アレルギー患者と健常者の腸内フローラに違いがみられることから、腸内フローラがアレルギーの発症や増悪に関与する可能性

が指摘されている。そこで、腸内フローラを正常化することにより腸管免疫系の制御機構を回復させアレルギーを予防することができれば、国民の健康管理の面で大きな意義がある。

本研究では、腸管免疫機構の特性を明らかにし、それらの知見に基づいて食事や腸内フローラを制御し、アレルギーを予防する方法を探る。

B. 研究方法

- 多量体抗体受容体欠損マウス($\text{pIgR}^{-/-}$ マウス)の腸管免疫機構を解析し、腸管内への IgA 分泌が腸管免疫系の恒常性に及ぼす影響を明らかにする。
- 摂取食餌量制限マウスを用いて、摂取カロリーがアレルギー発症や腸内フローラに及ぼす影響を解析する。
- プロバイオティクスの免疫調節作用を解析し、プロバイオティクスによる腸内フローラの制御を介したアレルギー予防の可能性を探る。

(倫理面への配慮)

マウスを用いた実験を行う場合は、(株)ヤ

クルト本社中央研究所動物実験審査委員会に研究計画書を提出し、本研究に参加しない第三者の審査を受ける。

C. 研究結果

a. pIgR^{-/-}マウスは腸管粘膜からの IgA 分泌が著しく阻止されているミュータントマウスである。pIgR^{-/-}マウスは野生型 (WT) マウスに比べて小腸上皮間 T 細胞(IEL)が多く、IEL のサブセット構成を調べた結果、Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-IEL の著しい増加が認められた。一方、無菌 pIgR^{-/-}マウスでは、通常の pIgR^{-/-}マウスに比べて小腸における Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-IEL の増加が見られないことから、腸内フローラの刺激が Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-IEL を増加させることが明らかである。

pIgR 欠損が Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-IEL を直接的に増加させているか否かを検討するために、pIgR^{-/-}TCRβ^{-/-}マウス(pIgR と TCRβ鎖の遺伝子を欠損する)の IEL を解析した。その結果、pIgR^{-/-}TCRβ^{-/-}マウスの IEL 数は WT マウスや TCRβ^{-/-}マウスと差がなく、pIgR^{-/-}TCRβ^{-/-}マウスと TCRβ^{-/-}マウスの IEL 構成 (~85%がγδ-T 細胞)には差がみられなかった。したがって、分泌型 IgA の欠損により Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-IEL が直接的に増加すると考えられる。

pIgR^{-/-}欠損による Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-IEL の増加機構を明らかにするために、WT マウスの脾臓から調製した成熟 T 細胞 (>95% は αβ-T 細胞) を TCRβ^{-/-}マウスまたは pIgR^{-/-}TCRβ^{-/-}マウスに移入したところ、2 週間後、4 週間後に両マウスで IEL 数が増加し、小腸上皮細胞間に αβ-T 細胞 (~70% が Thy-1⁺CD8αβ⁺αβ-T 細胞) が検出された。また、移入細胞由来の αβ-IEL は脾臓 T 細胞に比べて CD69 や CD103 の発現が高まっていた。これらの結果は、腸管外で分化した T 細胞が腸管上皮細胞間へホーミングし、腸管型 T 細胞へ変化する可能性を支持している。

b. 免疫系の発達におけるカロリー摂取の影響を検討するために、食餌を自由摂取、または自由摂取量の 80%、60%に制限して 4 週間飼育した。食餌量制限により、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。

食餌量の制限が Th1/Th2 バランスを Th1 側にシフトさせたことから、食餌量制限がアレルギー発症に及ぼす影響を調べるために、7 週齢のマウスを卵白アルブミン(OVA)で免疫後、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(気管肺胞洗浄液[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。

これらの結果は、食餌量を 60~80% に制限することによりアレルギー発症を予防できる可能性を示している。一方、食餌量制限は免疫防御機構の低下を招く危険があるので、適用の際は食餌量制限の時期が重要であると考えられる。

c. *Lactobacillus casei* strain Shirota (LcS) は、腸内フローラを正常化し、臨床試験で膀胱癌や大腸ポリープの再発を抑制することが確かめられたプロバイオティクスである。スギ花粉症患者を対象にした臨床試験で、LcS 含有発酵乳が、被験者全体のアレルギー症状を有意に改善しなかったが、鼻症状が中等度以上の被験者に対してアレルギー症状発症を遅らせる可能性が示唆された。そこで、アレルギー反応の改善に関わると考えられる LcS の免疫調節作用を解析した。

LcS は他の *Lactobacillus* 属乳酸桿菌に比べて、マウスマクロファージやヒト単球に対する IL-12 産生誘導作用が強く、活性本体は、消化酵素(N-acetyl muramidase) に耐性の細胞壁構造であると考えられた。LcS は TLR2、TLR4、TLR9 を欠損するマウスのマクロファージに対し、WT マクロファージと同程度の IL-12 産生を誘導した。一方、MyD88 を欠損するマクロファージに対して IL-12 産生を誘導することができなかった。また、ペプチドグリカンやその構成単位である MDP が存在すると LcS の IL-12 産生誘導が阻害された。これらのことから、LcS は TLR2/4/9 以外のレセプターを介して認識されること、LcS の細胞壁構造からの刺激と、TLR2 を介したペプチドグリカンの刺激は、IL-12 遺伝子発現を拮抗的に制

御すると考えられる。

Lactobacillus plantarum (Lp) は LcS に比べて IL-12 産生誘導作用が弱く IL-10 産生誘導作用が強かった。そこで、LcS と Lp による細胞内シグナル伝達経路の活性化を比較したところ、Lp は LcS に比べて ERK のリン酸化作用が強く、ERK 阻害剤の添加により Lp の IL-10/IL-12 産生バランスが IL-12 優位に変化した。さらに、Lp のテイコ酸が ERK 活性化に重要であり、テイコ酸が存在すると LcS の IL-12 産生が阻害されることが明らかになった。したがって、LcS とは異なる性質の腸内細菌が多数存在する腸内では LcS の IL-12 産生誘導作用がマスクされる可能性がある。今後は、常在性腸内フローラの違いにより LcS の効果が異なるかどうかを解析することが重要である。

D. 考 察

a. pIgR^{-/-}マウスでは、IgA の分泌が阻止され、小腸の Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β -IEL が著しく増加することが明らかになった。一方、無菌 pIgR^{-/-}マウスでは Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β -IEL の増加が見られないことから、腸内フローラの刺激が 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^{-/-}マウスでは Thy-1⁺CD8 α β ⁺ α β -T 細胞が選択的に腸管外から小腸上皮細胞間に移行する可能性を示唆している。

これまでに、腸管上皮細胞(IEC)はさまざまな細胞を遊走させる因子(ケモカイン)を産生することが知られている。また、IEC と IEL は密接に位置しており、細胞間接着を介した相互作用も予想される。今後は WT マウスと pIgR^{-/-}マウスの小腸 IEC の機能を詳細に比較することが重要である。

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 の選択的増加が腸管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。これらの知

見は、腸管粘膜防御機構の破綻に起因すると推測される食物アレルギーの発症機序解明とその予防法開発につながる事が期待される。

b. マウスモデルを用いて、食餌量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する理論的根拠となりうる。しかしながら、成長過程にある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。

c. *Lactobacillus casei* strain Shirota (LcS)は、免疫調節作用を有するプロバイオティクスである。これまでに動物モデルで抗アレルギー作用が認められ、臨床試験でアレルギー発症を遅らせる可能性が示唆された。LcSの抗アレルギー作用機構の一つは持続的なIL-12産生誘導作用であると考えられるが、他の細菌成分の共存によりLcSのIL-12産生誘導作用が修飾されることが明らかになった。したがって、常在性腸内フローラの違いによりLcSの抗アレルギー効果の有効性が異なるかどうかを、明確にしなければならぬ。

E. 結論

a. pIgR⁺マウスではThy-1⁺CD8 α β ⁺ α β -IELが選択的に増加することから、分泌型IgAは小腸上皮細胞間への過剰なThy-1⁺CD8 α β ⁺ α β -T細胞の集積を抑え、腸管粘膜における炎症抑制や恒常性維持に関与すると考えられる。また、本研究の結果は、腸管粘膜においてIgA分泌と α β -IELが相互に補い合っ腸管の防御を担う可能性を示唆している。

b. 食餌量の制限がアレルギー発症を予防することが明らかとなった。作用機序の一

つは、食餌量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である、と考えられた。

c. 腸内フローラとアレルギー発症は密接に関連し、プロバイオティクスは腸内フローラの正常化を介してアレルギーを予防することが期待される。今後は、プロバイオティクスの有効性を高めるために、常在性腸内フローラとプロバイオティクスの効果の関連を追究することが必要である。

F. 健康危機情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tamura M, Shikina T, Morihana T, Hayama M, Kajimoto O, Sakamoto A, Kajimoto Y, Watanabe O, Nonaka C, Shida K and Nanno M. Effects of probiotics on allergic rhinitis induced by Japanese cedar pollen: Randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **143**:75-82, 2007.
- 2) Shida K and Nanno M. Probiotics and immunology: separating the wheat from the chaff. *Trends Immunol.* **29**:565-573, 2008.
- 3) Shida K, Kiyoshima-Shibata J, Kaji R, Nagaoka M and Nanno M. Peptidoglycan from Lactobacilli inhibits interleukin-12 production by macrophages induced by *Lactobacillus casei* through Toll-like receptor 2-dependent and independent mechanisms. *Immunology* **128**:e858-e869, 2009.
- 4) Yamazaki K, Kato-Nagaoka N, Suzuki T, Shida K and Nanno M. Immune Deviation and Alleviation of Allergic Reaction in Mice Subjected to Dietary Restriction.

- Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**:2705-2711, 2009.
- 5) Kaji R, Kiyoshima-Shibata J, Nagaoka M, **Nanno M** and Shida K. Bacterial teichoic acids reverse predominant IL-12 production induced by certain *Lactobacillus* strains into predominant IL-10 production via TLR2-dependent ERK activation in macrophages. *J. Immunol.* **184**:3505-3513, 2010.
 - 6) Kobayashi T, Kato I, **Nanno M**, Shida K, Shibuya K, Matsuoka Y and Onoue M. Oral administration of probiotic bacteria, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium breve*, does not exacerbate neurological symptoms in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **32**:116-124, 2010.
 - 7) Chiba Y, Shida K, Nagata S, Wada M, Bian L, Wang C, Shimizu T, Yamashiro Y, Shibata J, **Nanno M** and Nomoto K. Well-controlled proinflammatory cytokine responses of Peyer's patch cells to probiotic *Lactobacillus casei*. *Immunology* (in press)
2. 学会発表
- 1) **南野 昌信**, 腸内細菌による腸管免疫機能の修飾、日本動物細胞工学会 2005 年度大会(2005 年 7 月 6 日、東京)
 - 2) **南野 昌信**, 腸内細菌概説、第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会(2006 年 5 月 31 日、東京)
 - 3) **Nanno M**. Immune modulation of macrophage functions by *Lactobacillus casei* strain Shirota. National Taiwan University 30th Anniversary Symposium "Food for the Wellness" (Nov 13~14, 2006, Taipei, Taiwan)
 - 4) **Nanno M**. Modulation of innate immunity by foods. 13th International Congress of Mucosal Immunology (Jul 9~12, 2007, Tokyo)
 - 5) Shida K, Kiyoshima-Shibata J, Suzuki T, Shimada S, Nagaoka M, Watanabe K and **Nanno M**. Augmentation of innate immunity by *Lactobacillus casei* Shirota through induction of IL-12. 13th International Congress of Mucosal Immunology (Jul 9~12, 2007, Tokyo)
 - 6) 志田 寛・**南野 昌信**、乳酸桿菌由来ペプチドグリカンによる TLR2 刺激を介する IL-12 産生抑制、第 37 回日本免疫学会学術集会(2007 年 11 月 20~22 日、東京)
 - 7) 志田 寛・柴田 潤子・加地 留美・長岡 正人・**南野 昌信**、*Lactobacillus* 属乳酸菌による IL-12 産生制御:易消化性乳酸桿菌の IL-12 産生抑制作用、日本農芸化学会 2008 年度大会(2008 年 3 月 26~29 日、名古屋)
 - 8) 鈴木 智美・柴田 潤子・長岡 紀子・志田 寛・**南野 昌信**、プロバイオティクスのサイトカイン産生誘導作用—マウスおよびヒト細胞での比較—、日本食品免疫学会 2008 年度大会(2008 年 5 月 13~14 日、東京)
 - 9) **Nanno M** and Shida K. Effect of *Lactobacillus casei* strain Shirota in healthy and diseased subjects. 14th World Congress of Food Science and Technology (Oct 19~23, 2008, Shanghai, China)
 - 10) 山川 陽子・志田 寛・**南野 昌信**、多量抗体受容体欠損マウスにおける小腸上皮間 T リンパ球の増加、第 38 回日本免疫学会学術大会(2008 年 12 月 1~3 日、京都)
 - 11) 加地 留美・柴田 潤子・志田 寛・長岡 正人・**南野 昌信**、*Lactobacillus* 属乳酸菌による ERK 経路の活性化がマクロファージの IL-10/IL-12 産生バランスを制御する、日本農芸化学会 2009 年度大会(2009 年 3 月 27~29 日、福岡)
 - 12) 加地 留美・柴田 潤子・志田 寛・長岡

正人・南野 昌信、テイコ酸含有菌体成分による TLR2 を介する ERK 経路の活性化は *Lactobacillus* 属乳酸菌による IL-10/IL-12 産生誘導バランスの鍵を握る、第 13 回腸内細菌学会 (2009 年 6 月 11~12 日、東京)

- 13) 志田 寛・加地 留美・柴田 潤子・鈴木 智美・長岡 正人・南野 昌信、*Lactobacillus casei* Shirota 株によるマクロファージの機能制御：IL-12 および IL-10 産生制御、日本食品免疫学会 2009 年度大会 (2009 年 5 月 26~27 日、東京)
- 14) 志田 寛・南野 昌信、プロバイオティクス乳酸菌に対するマクロファージのサイトカイン産生応答の多様性：TLR2 リガンドの共刺激による IL-12/IL-10 産生応答の修飾、第 39 回日本免疫学会学術集会 (2009 年 12 月 2~4 日、大阪)
- 15) Nanno M, Kato I, Kobayashi T, Shida K. Biological effects of probiotics: Which impacts does *Lactobacillus casei* strain Shirota give us? International Symposium on Occupational and Environmental Allergy and Immune Diseases 2010 (Apr 7~9, 2010, Kyoto)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

- 1) 分泌型 IgA の分泌因子を認識する単クローン抗体及び該抗体を産生するハイブリドーマ (出願番号 P2001-387362、平成 13 年 12 月 20 日出願)
- 2) アレルギー性疾患予防・治療剤のスクリーニング方法 (出願番号 P2005-167810、平成 17 年 6 月 8 日出願)
- 3) アレルギー性疾患予防・治療剤 (出願番号 P2005-167811、平成 17 年 6 月 8 日出願)
- 4) インターロイキン 12 産生抑制剤 (出願番号 P2007-24010、平成 19 年 2 月 2 日出願)

5) インターロイキン 10 産生促進剤 (出願番号 P2007-155229、平成 19 年 6 月 12 日出願)

6) インターロイキン 12 産生促進剤 (出願番号 P2007-331913、平成 19 年 12 月 25 日出願)

2. 実用新案登録
特記事項なし。

3. その他
特記事項なし。

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表 平成19年度(2007)

<雑誌>

主任研究者:清野 宏

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Nochi T, Yuki Y, Matsumura A, Mejima M, Terahara K, Kim DY, Fukuyama S, Iwatsuki-Horimoto K, Kawaoka Y, Kohda T, Kozaki S, Igarashi O and Kiyono H.	A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses.	J.Exp.Med	204	2789-2796	2007
Nochi T, Takagi H, Yuki Y, Yang L, Masumura T, Mejima M, Nakanishi U, Matsumura A, Uozumi A, Hiroi T, Morita S, Tanaka K, Takaiwa F and Kiyono H.	Rice-based mucosal vaccine as a global strategy for cold-chain- and needle-free vaccination.	Proc. Natl.Acad.Sci.U.S.A.	104	10986-10991	2007
Nagai S, Mimuro H, Yamamda T, Baba Y, Moro K, Nochi T, Kiyono H, Suzuki T, Sasakawa C and Koyasu S.	Role of Peyer's patches in the induction of Helicobacter pylori-induced gastritis.	Proc. Natl.Acad.Sci.U.S.A.	104	8971-8976	2007
Fukuyama S and Kiyono H.	Neuroregulator RET initiates Peyer's-patch tissue genesis.	Immunity	26	393-395	2007
McGhee JR, Kunisawa J and Kiyono H.	Gut lymphocyte migration: we are halfway 'home'.	Trends in immunology.	28	150-153	2007
Kunisawa J, Takahashi and Kiyono H.	Intraepithelial lymphocytes: their shared and divergent immunological behaviors in the small and large intestine.	Immunological reviews.	215	136-153	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Andersen-Nissen E, Hawn TR, Smith KD, Nachman A, Lampano AE, Uematsu S, Akira S and Aderem A.	Cutting Edge: Tlr5-/- Mice Are More Susceptible to Escherichia coli Urinary Tract Infection.	J Immunol	178	4717-2.	2007
Shim DH, Chang SY, Park SM, Jang H, Carbis R, Czerkinsky C, Uematsu S, Akira S and Kweon MN.	Immunogenicity and protective efficacy offered by a ribosomal-based vaccine from Shigella flexneri 2a.	Vaccine.	25	4828-36.	2007
Saha S, Takeshita F, Matsuda T, Jounai N, Kobiyama K, Matsumoto T, Sasaki S, Yoshida A, Xin KQ, Klinman DM, Uematsu S, Ishii KJ, Akira S and Okuda K.	Blocking of the TLR5 activation domain hampers protective potential of flagellin DNA vaccine.	J Immunol	179	1147-54	2007
Hawn TR, Berrington WR, Smith IA, Uematsu S, Akira S, Aderem A, Smith KD and Skerrett SJ.	Altered inflammatory responses in TLR5-deficient mice infected with Legionella pneumophila.	J Immunol	179	Jul-81	2007
Vijay-Kumar M, Sanders CJ, Taylor RT, Kumar A, Aitken JD, Sitaraman SV, Neish AS, Uematsu S, Akira S, Williams IR and Gewirtz AT.	Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice.	J Clin Invest.	117	3909-21.	2007
Vijay-Kumar M, Aitken JD, Kumar A, Neish AS, Uematsu S, Akira S and Gewirtz AT.	TLR5KO mice have dysregulated intestinal gene expression and non-specific resistance to Salmonella-induced typhoid-like disease.	Infect Immun.	in press	in press	2008

分担研究者:川内 秀之

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
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・アレルギー科編集委員会	臨床免疫・アレルギー科	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		vol.11 p.5	2007
Takamura K., et al.	Regulatory role of lymphoid chemokine CCL19 and CCL21 in the control of allergic rhinitis	J Immunol	179	5897-5906	2007
高村 薫 他	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		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		1975-1979	2008
青井 典明 他	サイトカインによるアレルギー治療	耳鼻咽喉科 展望		in press	
川内 秀之 他	アレルギー性鼻炎・花粉症の病態解明と治療戦略の確立ー環境衛生仮説から遺伝子治療までー	耳鼻咽喉科 展望		in press	

分担研究者:南野 昌信

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Yamazaki K, Shimada S, Kato-Nagaoka N, Soga H, Itoh Tand Nanno M.	Accumulation of intestinal intraepithelial lymphocytes in association with lack of polymeric immunoglobulin receptor.	Eur J Immunol	35 (4)	1211-1219	2007
Tamura M, Shikina T, Morihana T, Hayama M, Kajimoto O, Sakamoto A, Kajimoto Y, Watanabe O, Nonaka C, Shida K and Nanno M	Effects of probiotics on allergic rhinitis induced by Japanese cedar pollen: Randomized double-blind, placebo-controlled clinical trial.	Int Arch Allergy Immunol	143 (1)	75-82	2007

<書籍>

分担研究者: 審良 静男

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	頁	出版年
植松 智、審良静男	Toll-like receptorと自然免疫	生化学会長 生化学	生化学会 東京	769-776	2007

研究成果の刊行に関する一覧表 平成20年度(2008)

<雑誌>

主任研究者:清野 宏

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Chang SY, Cha HR, Uematsu S, Akira S, Igarashi O, Kiyono H and Kweon MN.	Colonic patches direct the cross-talk between systemic compartments and large intestine independently of innate immunity.	J. Immunol.	180	1609-1618	2008
Kunisawa J, Gohda M, Kurashima Y, Ishikawa I, Higuchi M and Kiyono H.	Sphingosine 1-phosphate-dependent trafficking of peritoneal B cells requires functional NFκB-inducing kinase in stromal cells.	Blood	111	4646-4652	2008
Ooi EL, Verjan N, Hirono I, Nochi T, Kondo H, Aoki T, Kiyono H and Yuki Y.	Biological characterisation of a recombinant Atlantic salmon type I interferon synthesized in <i>Escherichia coli</i> .	Fish Shellfish Immunol	24	506-513	2008
Chang SY, Cha HR, Igarashi O, Rennert PD, Kissenpfennig A, Malissen B, Nanno M, Kiyono H and Kweon MN.	Cutting edge: langerin+ dendritic cells in the mesenteric lymph node set the stage for skin and gut immune system cross-talk.	J Immunol.	180	4361-4365	2008
Gohda M, Kunisawa J, Miura F, Kagiya Y, Kurashima Y, Higuchi M, Ishikawa I, Ogahara I and Kiyono H.	Sphingosine 1-phosphate regulates the egress of IgA plasmablasts from Peyer's patches for intestinal IgA responses.	J Immunol.	180	5335-5343	2008

Momoi F, Hashizume T, Kurita-Ochiai T, Yuki Y, Kiyono H and Yamamoto M.	Nasal vaccination with outer membrane protein of <i>Porphyromonas gingivalis</i> and nontoxic chimeric enterotoxin adjuvant induces long-term protective immunity with reduced IgE antibodies.	Infect. Immunol.	76	2777-2784	2008
Ooi EL, Verjan N, Haraguchi I, Oshima T, Kondo H, Hirono I, Aoki T, Kiyono H and Yuki Y.	Innate immunomodulation with recombinant interferon-alpha enhances resistance of rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) to infectious hematopoietic necrosis virus.	Dev. Comp. Immunol.	32	1211-1220	2008
Kobayashi T, Takahashi K, Nagai Y, Shibata T, Otani M, Izui S, Akira S, Gotoh Y, Kiyono H and Miyake K.	Tonic B cell activation by radioprotective105/MD-1 promotes disease progression in MRL/lpr mice.	Int. Immunol.	20	881-891	2008
Verjan N, Ooi EL, Nochi T, Kondo H, Hirono I, Aoki T, Kiyono H and Yuki Y.	A soluble nonglycosylated recombinant infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) G-protein induces IFNs in rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	Fish Shellfish Immunol.	25	170-180	2008
Uematsu S, Fujimoto K, Jang MH, Yang BG, Jung YJ, Nishiyama M, Sato S, Tsujimura T, Yamamoto M, Yokota Y, Kiyono H, Miyasaka M, Ishii KJ and Akira S.	Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5.	Nat. Immunol.	9	769-776	2008
Terahara K, Yoshida M, Igarashi O, Nochi T, Pontes GS, Hase K, Ohno H, Kurokawa S, Mejima M, Takayama N, Yuki Y, Lowe AWand Kiyono H.	Comprehensive gene expression profiling of Peyer's patch M cells, villous M-like cells, and intestinal epithelial cells.	J. Immunol.	180	7840-7846	2008
Caipang CM, Verjan N, Ooi EL, Kondo H, Hirono I, Aoki T, Kiyono H and Yuki Y.	Enhanced survival of shrimp, <i>Penaeus (Marsupenaeus) japonicus</i> from white spot syndrome disease after oral administration of recombinant VP28 expressed in <i>Brevibacillus brevis</i> .	Fish Shellfish Immunol.	25	315-320	2008
Kunisawa J, Nochi T and Kiyono H.	Immunological commonalities and distinctions between airway and digestive immunity.	Trends Immunol.	in press	in press	2008

Fehervari Z and Kiyono H.	The mucosa: at the frontlines of immunity.	Trends Immunol.	in press	in press	2008
---------------------------	--	-----------------	----------	----------	------

分担研究者: 審良 静男

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Kawagoe T, Sato S, Matsushita K, Kato H, Matsui K, Kumagai Y, Saitoh T, Kawai T, Takeuchi O and Akira S.	Sequential control of Toll-like receptor-dependent responses by IRAK1 and IRAK2.	Nat. Immunol.	9	684-691	2008
Uematsu S, Fujimoto K, Jang MH, Yang BG, Jung YJ, Nishiyama M, Sato S, Tsujimura T, Yamamoto M, Yokota Y, Kiyono H, Miyasaka M, Ishii KJ and Akira S.	Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5.	Nat. Immunol.	9	769-776	2008
Kato H, Takeuchi O, Mikamo-Satoh E, Hirai R, Kawai T, Matsushita K, Hiiragi A, Dermody TS, Fujita T and Akira S.	Length-dependent recognition of double-stranded ribonucleic acids by retinoic acid-inducible gene-I and melanoma differentiation-associated gene 5.	J. Exp. Med.	205	1601-1610	2008
Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T and Akira S.	Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1beta production.	Nature	456	264-268	2008
Takeuchi O and Akira S.	RIG-I-like antiviral protein in flies.	Nat. Immunol.	9	1327-1328	2008

Akira S.	Innate immunity to pathogens: diversity in receptors for microbial recognition.	Immunol. Rev.	227	5-8	2009
----------	---	---------------	-----	-----	------

分担研究者: 川内 秀之

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
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 (Sup pl. 1)	43-47	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
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 -環境衛生仮説から遺伝子治療まで-	耳鼻咽喉科展望	51 (1)	8-25	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
頓宮美樹, 山田高也, 青井典明, 佐野千晶, 片岡真吾, 川内秀之	鼻粘膜における局所免疫応答機構の解析-サイトカイン産生とメモリーT細胞に関する検討-	耳鼻咽喉科免疫アレルギー	26 (2)	66-68	2008
川内秀之	特集/花粉症 スギ花粉症の感作と発症	アレルギーの臨床	28 (1)	22-28	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
Takagi H, Hiroi T, Yang L, Yuki Y, Takamura K, Ishimitsu R, Kawauchi H, Kiyono H and Takaiwa T.	Efficient induction of oral tolerance by fusing cholera toxin B subunit with allergen-specific T-cell epitopes accumulated in rice seed	Vaccine	26	6027-6030	2008
川内秀之	スギ花粉症の病態と治療-病態に基づいた治療戦略の構築-	耳鼻咽喉科臨床	101 (11)	815-825	2008

川内秀之, 青井典明, 村田明道, 合田薫, 森倉一朗, 山田高也	鼻アレルギー制御を目的とした粘膜免疫の臨床応用	アレルギー	58 (2)	103-111	2009
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	口腔・咽頭科	21 (1)	6	2008

分担研究者: 南野昌信

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻	頁	出版年
Shida K and M. Nanno	Probiotics and immunology: separating the wheat from the chaff	Trends Immuno	29	565-573	2008

<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・出版地	頁	出版年
Kiyono, H., Kunisawa, J., McGhee, J. R., and Mestecky, J.	The mucosal immune system. In Fundamental Immunology (Edited by William E. Paul).	Lippincott-Raven, Philadelphia,		983-1030	2008
熊谷雄太郎/審良静男	ウイルス感染に対抗する自然免疫機構	河岡義裕 / 実験医学 [ウイルス感染の新知見とワクチン開発の進展]	羊土社	42-48	2008
川内秀之	実地医家で行う花粉症・アレルギー性鼻炎の治療	日経メディカル開発	日経CME	2-3	2008
南野 昌信	1.食物アレルギーの概念 2.経口免疫寛容と腸管免疫	小林 陽之助 金子 一成 / 食物アレルギーの治療と管理	診断と治療社	12-21	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	医薬の門社	70-72	2008