

おいが問題であった。今回原液を約 100 倍してボトルに詰め、それをさらに 2000 倍から 5000 倍に希釈して入浴することと設定した。しかし高率の脱落者を認めた。これを製品化するには、もっと専門家を交えた工夫が必要であると考えた。

E. 結論

B タイプ CpG-DNA によって抗原特異的な免疫応答が共刺激分子発現を介して抑制される pathway も存在することが、判明した。これらのことは、CpG DNA を含む製品・食品がアレルギー反応を抑制する可能性を示し、代替物の選択性を高めることを可能とした。入浴剤などは、まだまだ検討の必要があると結論づけられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamada T, Lizhong S, Takahashi N, Kubo S, Narita N, Suzuki D, Takabayashi T, Kimura Y, Fujieda S: Poly(I:C) induces BlyS-expression of airway fibroblasts through phosphatidylinositol 3-kinase. Cytokine. 2010, in press

Kimura Y, Sugimoto C, Takabayashi T, Tanaka T, Kojima A, Narita N, Fujieda S: Bax-gene transfer enhances apoptosis by steroid treatment in human nasal fibroblasts. Eur Arch Otorhinolaryngol. 267:61-66, 2010

Sakashita M, Hirota T, Harada M, Nakamichi R, Tsunoda T, Osawa Y, Kojima A, Okamoto M, Suzuki D, Kubo S, Imoto Y, Nakamura Y, Tamari M, Fujieda S: Prevalence of Allergic Rhinitis and Sensitization to Common Aeroallergens in a Japanese Population. Int Arch Allergy Immunol. 151:255-261, 2009

Okubo K, Gotoh M, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Morikawa H, Masuyama K, Okamoto Y and Kobayashi M: Randomized Double-Blind Comparative Study of Sublingual Immunotherapy for Cedar Pollinosis. Allergology International. 57:265-275, 2008

Enomoto H, Hirata K, Otsuka K, Kawai T, Takahashi T, Hirota T, Suzuki Y, Tamari M, Otsuka F, Fujieda S, Arinami T, Noguchi E: Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population: a family and

case-control study. J Hum Genet 53:615-621, 2008

Sakashita M, Yoshimotoz T, Hirota T, Harada M, Okubo K, Osawaw Y, Fujiedaw S, Nakamuraz Y, Yasudaz K, Nakanishiz K and Tamari M: Association of serum interleukin-33 level and the interleukin-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. Clinical and Experimental Allergy 38:1875-1881, 2008

山田 武千代、窪 誠太、藤枝 重治: B細胞からみた免疫寛容と花粉症治療へのアプローチ. 日鼻誌 48:22-24, 2009

山田武千代、窪誠太、藤枝重治: ヒトB細胞抗原受容体とIL-4誘導クラススイッチ. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー 27:169-170, 2009

藤枝重治、坂下雅文: アレルギー性鼻炎. 小児科 50:7:994-1001, 2009

山本英之、藤枝重治: スギ花粉症患者の睡眠障害と QOL, スギ花粉症患者における第 2 世代抗ヒスタミン薬の鼻閉に対する効果. アレルギーの臨床 393:38-43, 2009

坂下雅文 広田朝光 藤枝重治: アレルギー性鼻炎 アレルギー・免疫 15:912-920, 2008

山田 武千代: 上皮からの BlyS 産生とアレルギー. 臨床免疫・アレルギー科 49:447-451, 2008.

2. 学会発表

Yamamoto H, Fujieda S, Yamada T, Yamamoto T, Kimura Y, Sunaga H, Osawa Y, Okamoto M, Kubo S, Oh M, Susuki D, Ohgi K, Kojima A: Clinical efficacy and QOL assessment of olopatadine hydrochloride in the Japanese cedar pollinosis (JCP) treatment. XIX World Congress of Oto-rhino-laryngology, São Paulo 2009. 6

山田武千代、窪誠太、藤枝重治: ヒトB細胞抗原受容体とIL-4誘導クラススイッチ. 第27回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2009. 2

窪 誠太、山田武千代、高橋 昇、大澤陽子、
藤枝重治：CpG によるヒト B 細胞からの PD-L1
と IL-10 の発現について．第 27 回日本耳鼻咽喉
科免疫アレルギー学会 2009. 2

山田武千代：アレルギー性鼻炎に対する新しい
治療への展望．第 21 回日本アレルギー学会春季
臨床大会 2009. 6

窪 誠太、山田武千代、高橋 昇、大澤陽子、
藤枝重治：TLR を介した CpG モチーフのアレルギー
抑制効果の基礎的検討 TLR9 を中心に．第 48
回日本鼻科学会 2009. 10

Takechiyo Yamada, Seita Kubo, Hideyuki
Yamamoto, Masafumi Sakashita, Dai Susuki,
Shigeharu Fujieda: The Effect of Self-IgG on
Basophil-function in Japanese Cedar
Pollinosis. 第 48 回日本鼻科学会 2009. 10

山田 武千代、窪 誠太、山本英之、木村有一、
齋藤寛、藤枝 重治：喉頭粘膜由来線維芽細胞に
よる TSLP (thymic stromal lymphopoietin) 産
生．第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会
2009. 10

藤枝重治：アレルギー疾患の最新治療 鼻ア
レルギー．第 23 回日本耳鼻咽喉科専門医講習会
2009. 11

山田武千代、窪誠太、高橋昇、藤枝重治：鼻粘
膜由来線維芽細胞に対する CpG DNA の作用．第
26 回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 2008. 2

窪 誠太、山田 武千代、大澤 陽子、高橋 昇、
藤枝 重治：CpG によるヒト B 細胞 ICOS-L 発現抑
制．第 26 回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学
2008. 2

山田 武千代：B 細胞と気道病態-B 細胞の機能に
ついて．第 8 回鎌倉カンファレンス 2008. 4

山田武千代、藤枝重治：One airway one disease
としての上気道病態の重要なメディエーターは
何か？ 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大
会 2008. 6

山田武千代、窪誠太、藤枝重治：B 細胞とアレル
ギー -B 細胞からみた免疫寛容と花粉症治療へ
のアプローチ．第 44 回鼻科学会基礎問題研究会
2008. 9

窪 誠太、山田 武千代、大澤 陽子、藤枝 重治：
CpG による B 細胞 PD-L1 発現促進とその機能．
第 49 回日本鼻科学会 2008. 9

山田 武千代、窪 誠太、藤枝 重治：B 細胞抗原
受容体と IL-4 誘導クラススイッチについて．第
58 回日本アレルギー学会 2008. 11

窪 誠太、山田 武千代、大澤 陽子、藤枝 重治：
CpG 処理した B 細胞の T 細胞活動抑制に関与する
因子について．第 58 回日本アレルギー学会
2008. 11

G. 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

鹿児島県におけるアレルギー性鼻炎、スギ花粉症に対する代替医療の実態
ならびに効果の検討
—鼻粘膜ヒスタミン受容体、血管内皮細胞増殖因子の検討も含めて—

研究分担者 黒野 祐一 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 教授
研究協力者 松根 彰志 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 准教授

研究要旨

アレルギー性鼻炎、花粉症に対して、鹿児島県での代替医療の利用率を検討したところ、6.4%で全国平均の18.5%より少なかった。その内容は、ヨーグルト、甜茶、鼻スチーム、漢方などであった。スギ花粉エキス、乳酸菌タブレット、甜茶による症状抑制効果を2重盲検比較試験で検討したところ、明確な効果は認められなかった。ただし、スギ花粉エキス、乳酸菌タブレットにより、HIR mRNAの発現の低下傾向を認め、さらに長期に使用することによる症状抑制効果も検討する必要があると考えられた。また、アレルギー性鼻炎の病態で、血管内皮細胞増殖因子が深く関与している可能性が示唆された。代替医療の科学的根拠を検討する際には、これら病態因子の解析も併せて検討する必要があると思われる。

A.研究目的

1. 鹿児島県におけるアレルギー性鼻炎、花粉症に対する代替医療の実態を調査する。
2. スギ花粉エキスによる舌下免疫療法や乳酸菌タブレットのスギ花粉症に対する効果を検討する。(鹿児島県における調査)
3. 甜茶の通年性アレルギー性鼻炎に対する効果を検討する。(鹿児島県における調査)
4. アレルギー性鼻炎・スギ花粉症の病態を科学的に解析する為に、ヒスタミン受容体1-messenger RNA (HIR mRNA)、血管内皮細胞増殖因子(VEGF; Vascular Endothelial Growth Factor)に関する検討を行なう。

B.研究方法

- 1 鹿児島大学病院耳鼻咽喉科およびその関連施設の外来、鹿児島県下の耳鼻咽喉科開業医にて代替医療の実施の有無やその内容などに関するアンケート調査を実施した。
- 2-1 平成20年12月から平成21年4月まで、スギ花粉患者40名を対象にスギ花粉エキス(またはプラセボ) and/or 乳酸菌タブレット(またはプ

ラセボ)の効果に関する二重盲検比較試験を行なった。

- 2-2 17名のスギ花粉症患者において、舌下免疫療法 and/or 乳酸菌タブレットの①投与開始前(12月初旬)と②スギ花粉本格飛散直前(1月下旬)に滅菌消毒綿棒を用いて鼻粘膜を擦過し採取した。採取した細胞からmRNAを抽出し、complement DNAを作成しRT-PCR法を用いHIR mRNA発現量を測定した。花粉飛散前のHIR mRNA発現の(①、②の間での)変化と、スギ花粉最大飛散時期の症状について検討した。

- 3 平成21年9月から同年10月までの30日間、ハウスダスト、ダニを抗原とする通年性アレルギー性鼻炎患者15名に対して、甜茶カプセル(またはプラセボ)の効果に関する二重盲検比較試験を行なった。

- 4 通年性アレルギー性鼻炎症例から得られた、鼻汁サンプル、抗原誘発前後の鼻腔洗浄液、下鼻甲介粘膜腺組織の免疫染色、下鼻甲介腺組織の燐液腺及び粘液腺細胞から得られたmRNAを用いたRT-PCR法によりアレルギー性鼻炎病態におけるVEGFを検討した。下鼻甲介粘膜腺組織から燐液腺及び粘液腺細胞から個別にmRNAを採取する方法としてLaser

Microdissection 法を用いた。

(倫理面への配慮)

アレルギー性鼻炎・花粉症の患者を対象に行なわれた、以上の検討については、鹿児島大学病院、臨床倫理委員会における審査を経て許可を得たプロトコールに基づいておこなわれた。その際、患者から同意を得てから実施した。

C. 研究結果

1 「代替医療」に関するアンケート調査を医療機関の耳鼻咽喉科の外来の待ち合いで受診目的や疾患に関係なく実施した。今回の代替医療に関するアンケート調査により、鹿児島県の耳鼻咽喉科医療機関を訪れた患者の 6.4%が代替医療を利用したことがあるとの結果であった。アレルギー性鼻炎に対して多く行なわれている代替医療の主な内容は、甜茶、鼻スチーム、ヨーグルト、(医療機関の処方にはない) 漢方であった。性別では、男性より女性に、年齢別では 30 歳代～40 歳代に多く見られた。代替医療の実施期間は、1 年以上が最も多く 35%、1 年以内と 1 ヶ月以内がそれぞれ 25%であった。また、かけた費用では最も多いのが 1 万円～10 万円 40%、次に千円～1 万円 30%であった。どのように情報を得たかについては、最も多いのが家族や友人からの勧めで 40%、次にテレビ、新聞で 22%、そして健康雑誌などが 18%であった。インターネットは 5%程度であった。効果については、「非常に効果あり」が 9%、「少し効果あり」が 41%で、約半数の人は「効果あり」と考えていることがわかった。ところで、医療機関にかからず「代替医療」を選択する理由については、「副作用が少ない治療だと思った。」(36%)、「医師にかかるのがめんどうだから。」(18%)、「安く済むと思ったから」(17%)、「医師による治療の効果が認められないから」(9%) という結果であった。また、医師を受診する際に代替医療のことを話す、または相談するのは 12%であった。そしてそれらの患者に対して医師はほとんどが無反応で、勧めもしなければやめさせもしなかったとのことである。

2-1 スギ花粉最大飛散時期の症状について、スギ花粉エキスを舌下免疫の実薬とプラセボとの間で差は認められなかった。

2-2 スギ花粉エキス (実薬) 舌下免疫+乳酸菌タブレット (実薬) で、スギ花粉本格飛散前の時期に、H1R mRNA の減少が強い傾向として認められた。

($p=0.069$)

また、スギ花粉エキス (実薬) 舌下免疫群では、乳酸菌タブレットが実薬であってもプラセボであっても、スギ花粉本格飛散前の時期に、H1R mRNA の有意($p=0.016$)な減少が認められた。しかし、スギ花粉エキス (プラセボ) 舌下免疫群では、乳酸菌タブレットが実薬であってもプラセボであっても、スギ花粉本格飛散前の時期に、H1R mRNA の有意な減少は認められなかった。

また、乳酸菌タブレット実薬群では、スギ花粉エキスが実薬であってもプラセボであっても、スギ花粉本格飛散前の時期に、H1R mRNA の有意($p=0.021$)な減少が認められた。しかし、乳酸菌タブレットプラセボ群では、スギ花粉エキスが実薬であってもプラセボであっても、スギ花粉本格飛散前の時期に、H1R mRNA の有意な減少は認められなかった。

3 通年性アレルギー性鼻炎症状に対する甜茶の効果は、今回の検討では明確には示すことができなかった。

4 アレルギー性鼻炎鼻汁中には、慢性副鼻腔炎症例と比べても有意に多量の VEGF を認めた。この VEGF は、抗原誘発によって更に有意に増加した。免疫染色にて鼻粘膜腺組織に抗 VEGF 抗体陽性像を認めた。特に粘液腺細胞よりも漿液腺細胞に強い陽性像を認めた。mRNA レベルでも、粘液腺細胞よりも漿液腺細胞でより多量の VEGF を認めた。ただし、アイソフォームの解析では、両者に差は認めずともに VEGF165 と VEGF121 が主要アイソフォームであった。これは、その他の腫瘍、炎症等の病理的 VEGF のアイソフォームの検討と同じ結果であった。

D. 考察

今回の調査で鹿児島県での代替医療の利用率は、6.4%で全国平均の 18.5%を大きく下回った。ただし、今回の調査は、耳鼻咽喉科外来に来られた患者を対象に行なっているので、まったく医療機関を訪れない患者は、最初から母集団に入っておらず、実際にはアレルギー性鼻炎、花粉症でありながら代替医療を経験している患者は鹿児島でも全国でももっと多いと思われる。代替医療の内容については、ヨーグルト、甜茶は他の地域と同様に多かったが、鼻スチームや (医師の処方を介さない) 漢方が多いのは鹿児島の地域的特徴といえる。

鹿児島県でのスギ花粉症に対するスギ花粉エキス

による舌下免疫や乳酸菌タブレット、更には、通年性アレルギー性鼻炎に対する甜茶の効果は明確には認められなかった。これは、実施期間が短かったことが影響している可能性がある。

スギ花粉エキスによって、HIR mRNA の発現に影響が認められる傾向はあったが、症状での効果発現までには至らなかった。検討対象となった、鼻粘膜の擦過で得られる細胞が何であったかスメアー標本を検討したところ、多くは上皮細胞であったが、一部に好酸球や好中球、単核球などの浸潤細胞を認めた。解析対象となった mRNA はこうした細胞から得られたものであった。実際スギ花粉エキスによる舌下免疫療法でも 2~3 年は実施されることが必要で、その有効性を支持するデータは多い。

鹿児島県における、代替医療の実施状況の調査、ならびにスギ花粉エキスによる舌下免疫、ヨーグルト、甜茶による効果に関する検討を全国調査の一部として、今回初めて行なうことができた。代替医療の 1 つの柱である、健康食品は使い方を誤らなければ、国民の健康増進や病気の予防に役立つ可能性がある。また、医療費の軽減といった効果も期待され、商業マーケット的にも今後拡大の方向にある。こうした社会的な側面も考慮に入れ、調査方法や実施期間などの問題点にも検討を加えつつ、このような調査は定期的に継続されるべきと考える。その際、VEGF などのサイトカインの動態に注目したアレルギー性鼻炎の病態検討や HIR mRNA の解析による代替医療の作用機序についての検討を行うことも科学的検証として重要である。

E. 結論

1. アレルギー性鼻炎、花粉症に対して、鹿児島県での代替医療の利用率は、6.4%であった。その内容は、ヨーグルト、甜茶、鼻スチーム、漢方などであった。
2. 鹿児島県での検討では、スギ花粉エキス、乳酸菌タブレット、甜茶による症状抑制効果は、明確には認められなかった。
3. スギ花粉エキス、乳酸菌タブレットにより、HIR mRNA の発現の低下傾向を認めた。
4. アレルギー性鼻炎の病態で、VEGF が深く関与している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Matsune S, Ohori J, Sun D, Yoshifuku K, Fukuiwa T, Kurono Y. Vascular endothelial growth factor produced in nasal glands of perennial allergic rhinitis. *Am J Rhinology* 22: 365-370, 2008.
2. 宮之原郁代 松根彰志、黒野祐一. 使用実態調査からみた花粉症に対する第 2 世代抗ヒスタミン薬の選択基準. *臨床免疫・アレルギー科* 49: 420-425, 2008.
3. 黒野祐一. アレルギー性鼻炎—第 6 版改訂のポイント— *アレルギー* 58: 1484-1489, 2009.
4. 黒野祐一. 鼻・副鼻腔のアレルギー疾患と治療薬の使用法. *ENTON* 104: 6-11, 2009.
5. 黒野祐一. 鼻アレルギー診療ガイドライン改訂に臨んで. 鼻閉用薬剤の使用法. *Prog.Med.* 29: 311-314, 2009.
6. 松根彰志. アレルギー性鼻炎と副鼻腔炎の関連について. *JOHNS* 25: 451-453, 2009.
7. Sekigawa T, Tajima A, Hasegawa T, Hasegawa Y, Inoue H, Sano Y, Matsune S, Kurono Y, Inoue I. Gene-expression profiles in human nasal polyp tissues and identification of genetic susceptibility in aspirin-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 39: 972-981, 2009.
8. 宮之原郁代 松根彰志、大堀純一郎、黒野祐一. スギ花粉症に対するプラニルカスト初期療法の有用性. *耳鼻と臨床* 55: 31-39, 2009.

2. 学会発表

1. 松根彰志、黒野祐一. 血管内皮細胞増殖因子の鼻粘膜血管透過性亢進作用について—ヒスタミンとの比較検討—. 第 19 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 平成 19 年 6 月 10 日~12 日. 横浜市.
2. 大堀純一郎、松根彰志、牧瀬高穂、黒野祐一. アレルギー性鼻炎における VEGF と TGF- β の役割. 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会. 平成 19 年 11 月 1 日~3 日. 横浜市.
3. 牧瀬高穂、大堀純一郎、宮之原郁代、松根彰志、黒野祐一. スギ花粉症患者の鼻粘膜擦過細胞における H1 受容体 mRNA の発現. 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会. 平成 20 年 6 月 12 日~14 日. 東京都.
4. 牧瀬高穂、大堀純一郎、宮之原郁代、松根彰志、黒野祐一. 鼻粘膜におけるヒスタミン H1 受容体発現と初期療法の効果. 第 27 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会. 平成 21 年 2 月 12 日~2 月 14 日.

千葉市.

5. 牧瀬高穂、松根彰志、原田みづえ、田中紀充、宮之原郁代、岡本美孝、黒野祐一. スギ花粉症に対する代替医療による鼻粘膜ヒスタミン受容体発現への影響に関する検討. 第59回日本アレルギー学会秋季学術大会. 平成21年10月29日—31日. 秋田市.

6. 松根彰志. アレルギー性鼻炎・花粉症に対する代替医療の位置づけ. 第18回鹿児島アレルギー懇話会. 平成22年2月4日. 鹿児島市.

7. 牧瀬高穂、大堀純一郎、宮之原郁代、松根彰志、黒野祐一. スギ花粉症治療としての舌下免疫療法とヒスタミン受容体発現に及ぼす影響. 第22回気道病態研究会. 平成22年2月27日. 東京都.

G.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

代替医療による免疫制御機構の解析モデルの構築と検証

研究分担者 岡野 光博 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科准教授

研究要旨

アレルギー疾患に対する代替医療の有効性が示唆されているが、その免疫制御作用に関する検討は十分ではない。我々は末梢血単核細胞（PBMC）を用いた解析モデルの構築を試みた。今回は代替医療のうち、プロバイオティクスの代表である乳酸菌とトロポリン誘導体であるヒノキチオール（hinokitiol）の免疫制御機構を検討した。PBMCは乳酸菌抗原刺激に対して刺激早期にFoxp3⁺ 制御性T細胞非依存性にIL-10産生を示した。遺伝子レベルでも同様の結果を得た。さらにマイクロアレイ解析で、乳酸菌抗原はPBMCの約1%の遺伝子の発現を制御し、プロバイオティクス作用を発揮する可能性が示された。ヒノキチオールは12-LO阻害作用や金属キレート作用を介さずアレルギー特異的なIL-5産生抑制作用を示し、アレルギー疾患に対する代替医療として期待できる可能性が示唆された。本解析法は、各種の代替医療の免疫制御作用を検討するin vitroモデルとして有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

衛生仮説などを背景として、代替医療がアレルギー疾患の予防や緩和に効果を示す可能性が報告されている。しかしながらその免疫学的な作用機序に関する検討は未だ十分ではない。その要因のひとつとして、解析モデルが構築されていないことが挙げられる。

今回我々は、代替医療のうちプロバイオティクスの代表である乳酸菌とトロポリン誘導体であるヒノキチオールを対象として選択し、末梢血単核細胞（PBMC）を用いた、代替医療の免疫制御作用を解析するモデルの構築を試みた。

B. 研究方法

（1）プロバイオティクスによる制御性T細胞・制御性サイトカインの誘導機構

PBMCを乳酸菌抗原にて刺激した。上清中のIL-10およびTGF- β をELISAにて測定した。培養細胞におけるFoxp3⁺ 制御性T細胞の発現をFACSにて観察した。

（2）プロバイオティクスによる遺伝子発現の網羅的解析

PBMCを乳酸菌抗原にて刺激した。培養細胞のmRNAを分離し、遺伝子発現の変化をcDNAマイクロアレイにて解析した。コントロールと比べ有意な変動を示した遺伝子を抽出した。さらにパスウェイ解析を行い、変動遺伝子群を同定した。

（3）ヒノキチオールによるスギ花粉特異的PBMC応答の制御

PBMCをスギアレルゲンCry j 1にて刺激する

際に、種々の濃度のヒノキチオールあるいは12-LO阻害作用のあるesculetinやbaicaleinを添加した。培養72時間後に上清を回収し、IL-5産生をELISAにて測定した。

（倫理面への配慮）

ボランティアからの検体（末梢血）採取に関しては、学術的な意義について十分な説明を行い、同意・協力が得られた上で採取保存する。本研究の一部は岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・倫理委員会による審査を受け（課題名：アレルギー性鼻炎に対する乳酸菌（KW株）摂取の有効性の検討；承認番号071201）、承認されている。

C. 研究結果

（1）プロバイオティクスによる制御性T細胞・制御性サイトカインの誘導機構

乳酸菌抗原刺激に対してPBMCは培養12時間後に有意なIL-10産生を示した。一方、乳酸菌抗原刺激に対するTGF- β 産生は認めなかった。乳酸菌抗原刺激によるFoxp3⁺ 制御性T細胞の増加はみられなかった。

（2）プロバイオティクスによる遺伝子発現の網羅的解析

検討した遺伝子うち、乳酸菌抗原刺激に対して有意な発現亢進を認めた遺伝子は0.73%、発現抑制を認めた遺伝子は0.35%であった。発現が亢進した遺伝子の中には、Short transient receptor potential channel 1 (28.57倍)、GM-CSF (18.07倍)、SLAM (17.19倍)、interferon-induced protein (12.88倍) などがあり、また最も発現が

低下した遺伝子の中には、osteopontin (0.09 倍)、IL-1R (0.11 倍)、CXCL6 (0.13 倍) などがみられた。パスウェイ解析を行うと、発現が亢進した遺伝子群として、IL-10 や IL-19 などの制御性サイトカインを含む cytokine ($p=0.0025$) や IL-12RB2 や IL-2RA などを含む cell surface receptor ($p=0.0033$) などが同定された。また発現が抑制した遺伝子群として、CCL2 や CCR1 などの chemotaxis ($p<0.0001$) や inflammatory response ($p<0.0001$) などが同定された。

(3) ヒノキチオールによるスギ花粉特異的 PBMC 応答の制御

ヒノキチオールは濃度依存的に Cry j 1 特異的な IL-5 産生を抑制した。一方 esclatin や baicalein の添加ではこの抑制作用はみられなかった。ヒノキチオールによる IL-5 産生抑制作用は Ca-EDTA、Mg-EDTA、Zn-EDTA の存在下でも示された。

D. 考察

乳酸菌抗原は日本人においても PBMC からの IL-10 産生を誘導することが明らかとなった。ただし、乳酸菌による IL-10 産生は刺激早期にみられることが示され、持続した IL-10 産生を得るためには反復した刺激が必要である可能性が示唆された。

乳酸菌抗原は PBMC レベルにおいて約 1 % の遺伝子の発現を制御し、プロバイオティックス作用を発揮する可能性が示された。変動遺伝子群の中には、IL-10 などのサイトカイン遺伝子群が発現亢進を示すことはタンパクレベルでの解析と矛盾しない。その一方で Short transient receptor potential channel 1 や GM-CSF などはプロバイオティックス作用への関与に関しては十分な検討はなく、今後網羅的解析により抽出された変動遺伝子の免疫病態的な意義付けを今後行う必要がある。

ヒノキチオールの Cry j 1 特異的な IL-5 産生抑制作用より、トロポリン誘導体はスギ花粉症などのアレルギー疾患に対する代替医療として期待できる可能性が示された。また今回の検討からはヒノキチオールの Th2 サイトカイン産生抑制作用は 12-LO 阻害作用や金属キレート作用を介さないことが示唆された。

E. 結論

乳酸菌抗原は、タンパクレベルにおいて Treg 非依存性に IL-10 産生を誘導する可能性が示された。また mRNA レベルにおいても IL-10 をはじめとするサイトカイン産生や受容体発現の亢

進、あるいは炎症反応や細胞遊走を抑制することによりプロバイオティックス作用を発揮することが示唆された。ヒノキチオールにおいても、抗原特異的 Th2 サイトカイン産生抑制作用を介して花粉症をはじめとするアレルギー疾患の緩和や軽症化に寄与する可能性が考えられた。さらに本モデルにより各種代替医療の免疫制御作用を解析することが期待できる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sugata Y, Okano M, et al. Histamine H4 receptor agonists have more activities than an H4 agonism in antigen-specific human T cell responses. *Immunology* 121: 266-275, 2007.
- 2) Hattori H, Okano M, et al. STAT1 is involved in the pathogenesis of murine allergic rhinitis. *American Journal of Rhinology* 21: 241-247, 2007.
- 3) Kimura Y, Okano M, et al. Glycoform analysis of Japanese cypress pollen allergen, Cha o 1: a comparison of the glycoforms of cedar and cypress pollen allergens. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 72: 485-491, 2007.
- 4) Nomiya R, Okano M, Fujiwara T, Maeda M, Kimura Y, Kino K, Yokoyama M, Hirai H, Nagata K, Hara T, Nishizaki K, Nakamura M. CRTH2 plays an essential role in the pathophysiology of Cry j 1-induced pollinosis in mice. *Journal of Immunology* 180 (8): 5680-5688, 2008.
- 5) Okano M. Current status of intranasal glucocorticoids in the management of allergic rhinitis. *Clinical and Experimental Allergy Reviews* 8: 57-62, 2008.
- 6) Okubo K, Goto M, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Morikawa H, Masuyama K, Okamoto Y, Kobayashi M. A randomized-double-blind comparative study of sublingual immunotherapy for cedar pollinosis. *Allergology International* 57 (3): 265-275, 2008.
- 7) Okano M, Otsuki N, Azuma M, Fujiwara T, Kariya S, Sugata Y, Higaki T, Kino

K, Tanimoto Y, Okubo K, Nishizaki K.
Allergen-specific immunotherapy alters the
expression of BTLA, a co-inhibitory mol
ecule, in allergic rhinitis. Clinical and Ex
perimental Allergy 38 (12):1891-1900, 20
08.

- 8) Okano M. Mechanisms and clinical
implications of glucocorticosteroids in the
treatment of allergic rhinitis. Clinical and
Experimental Immunology 158 (2): 164-173,
2009.

2. 学会発表

- 1) 岡野光博：花粉症治療の未来. 第 57 回日
本アレルギー学会秋季学術大会（イブニン
グシンポジウム 11）. 2007. 11.
- 2) 山本美紀、岡野光博ら：スギ特異的免疫療
法の有効性－JRQLQ による検討－. 第 57
回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2007
. 11.
- 3) 岡野光博ら：スギ特異的免疫療法の Cry j
1 および Cha o 1 特異的 IL-5 産生への効
果. 第 26 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー
学会. 2008. 2.
- 4) 春名威範、岡野光博ら：アレルギー性鼻炎
に対する代替医療の実態に関する調査.
第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会
. 2008. 6.
- 5) 檜垣貴哉、岡野光博ら：プロバイオティク
スの末梢血単核細胞に対する作用の網羅
的解析と免疫制御機構の機能解析. 第 47
回日本鼻科学会. 2008. 9.
- 6) 岡野光博：スギ花粉症に対する免疫療法
の現状と限界、そして未来. 第 58 回日本
アレルギー学会秋季学術大会（イブニング
シンポジウム 3）. 2008. 11.
- 7) 岡野光博、檜垣貴哉、牧原靖一郎、野宮理恵、
春名威範、西崎和則. スギ花粉症患者のヒノ
キ抗原に対する末梢血単核細胞応答-ヒノキ
感作の影響-. 2009 年 6 月 5 日. 第 21 回日
本アレルギー学会春季臨床大会（岐阜）.
- 8) 岡野光博. 春季花粉症の病態と治療におけ
るヒノキ花粉のインパクト. 2009 年 10 月 30
日. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大
会（秋田）.

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

f-MRI を用いたプラセボ効果の可視化に関する研究

研究分担者 山本 正二 千葉大学医学部附属病院 放射線部 講師

研究協力者 茶菌 英明 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科 助教

久満美奈子 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科 医員

研究要旨

アレルギー性鼻炎の治療評価で高い出現がみられるプラセボ効果について、functional MRI (f-MRI) 検査で客観的に測定することを目的に検討を行った。8名の被験者に「好ましい」という条件付けを行い、このうち6名で脳の賦活化がf-MRIで確認された。一方、鼻閉に関して香りを添加した点鼻血管収縮剤で爽快感を得る条件付け後に、香りの刺激のみでも爽快感を感じるようになった被験者が8名中3名みられ、このうち2名ではf-MRIで香りのみの刺激で情動領域の脳賦活化が確認された。一方、このような香りによる爽快感が得られなかった被験者では、脳賦活化は確認されなかった。

A. 研究目的

鼻症状に対する治療ではプラセボ効果が高くみられ、アレルギー性鼻炎に対する薬剤の開発治験の際、プラセボ薬でも30%あるいはそれ以上の高いプラセボ効果が報告されている。鼻症状に対するプラセボ効果の高い発現機序は不明であるが、客観的測定がfunctional MRI (f-MRI: 機能的核磁気共鳴画像法) で可能かどうかを検討する。

検討内容は以下の通りである。

- ①「好ましい」と思う個体内情動を客観的に可視化する方法の確立
- ②鼻閉改善についてプラセボ効果をモデル化する方法の確立
- ③プラセボ効果をモデル化した症例においてプラセボ効果の可視化の立証

B. 研究方法

- ①f-MRIの撮影は、GE社製1.5T MRI装置を使用し、情動のON(快楽)とOFF(苦痛)条件を事前に設定し被験者に説明し、それらの状況を思考することで実施した。撮影範囲はOMlineに平行で後交連に接するスライス断面を設定。情動思考のON/OFFを交互に30秒毎に繰り返し、270秒間撮影した。
- ②プラセボ効果については薬理作用のない薬剤を投与することにより、苦痛から解放され、快楽が得られることとした。検討方法としては、血管収縮剤入

りの点鼻薬に香りを付け、鼻が良く通る体験を通じて、この点鼻薬の爽快感を学習し、その後血管収縮剤のない香り付き点鼻薬で同様な爽快感を得ることができた(実薬と区別が付かなかった)症例を抽出した。

- ③プラセボ効果の可視化については、血管収縮剤の入っていない香り付き生食を点鼻することで、血管収縮剤入りの点鼻薬と同等の爽快感を自覚しているプラセボモデル症例3例と爽快感を自覚しない症例5例を対象とし、同じ香料を酸素とともに鼻カヌラで鼻腔に送り込みf-MRI画像を撮影した。
(倫理面への配慮)

研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意(インフォームド・コンセント)を得て行った。

C. 研究結果

- ①f-MRIでは、8名のうち、6名で脳の賦活化が認められ可視化が可能であった。いずれもその部位として基底核および中脳が含まれており、交感神経が刺激されたときに活性化され、放出されるドーパミンの放出経路と一致していた。
- ②プラセボ効果については、血管収縮剤入りの点鼻薬(実薬点鼻)と同等の爽快感を得た症例が、8例中3例で認められプラセボ効果のモデルになると考えられた。

③プラセボ効果の可視化については、f-MRI で香り刺激のみでプラセボ効果を認めた3例中2例で、香り刺激で情動領域の脳賦活化が確認できた。このようなプラセボ効果が見られなかった症例では、このようなf-MRIの応答が得られなかった。

D.考察

中脳と脳幹のモノアミン系ニューロン群は、大脳基底核（淡蒼球、側座核）などに投射し情動行動の制御に関わるが、これら自身が大脳基底核→髄条→反屈束→脚間核→モノアミン系ニューロン群という経路を介した制御を受けている。今回の検討でこれらの部位がプラセボ効果でも賦活化されると推察され、f-MRI を用いることにより可視化することが可能となった。

E.結論

プラセボ効果をモデル化した症例においてプラセボ効果の「好ましい」と思う情動変化を視覚的に捉える事が出来る可能性が示された。

F.研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- ・山本正二. 放射線医学の観点から見たヴィジュアルイゼーション. ヴィジュアルイゼーション セミナー. 2009年10月. スウェーデン大使館.
- ・Akinobu Shimizu, Seiji Yamamoto. Computer-Aided Diagnosis of Autopsy Imaging Based on Computational Anatomy. The first International Symposium on the Project.2010年2月. 東京.

G.知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

アレルギー性鼻炎における代替医療の臨床研究と QOL、気象条件との関連性の研究

研究分担者	大久保公裕	日本医科大学耳鼻咽喉科准教授
研究協力者	後藤 穰	日本医科大学千葉北総病院耳鼻咽喉科講師
	指原 紀宏	明治乳業研究本部 食機能科学研究所
	村山 貢司	気象業務支援センター

研究要旨

スギ花粉症は近年の疫学調査からもその有病率が増加している疾患であることは誰もが認めるところである。この有病率の増加は著しく、低年齢、高齢者での増加が顕著である。この原因の一つには飛散する花粉量の増加が挙げられ、飛散花粉量の多い地域では有病率が高いことが 2010 年に報告された（アレルギー59(1):47-54,2010）。国民は症状を抱えながらも休む事もできずに QOL の低下を招いている。またこのことにより日本における巨額な経済損失が生じている。米国ではアレルギー性鼻炎従業員一人あたりの経済損失は平均 593 ドルと最も高い。このような現状で、日本では花粉症治療に関して一般医療と別に代替医療が行われている。この代替医療はマスク、メガネのセルフケアはもちろん、乳酸菌やその他健康食品なども含まれる。しかしこの代替医療におけるエビデンスは少なく、一般医療と比べての効果の程度も分かっていない。今回、我々は乳酸菌 OLL2809 の花粉症患者に対する臨床試験、ポリフェノールであるケルセチンの同じく花粉症患者に対する臨床試験、そしてマスク、メガネの検証実験を行い、それぞれの代替医療がある程度の有効性を持つことを明らかにした。また我々は気象条件そのものが花粉症の QOL に影響を与えている可能性を考えて 2003 年から 2009 年までの QOL データと気象条件の相関の検討を行った。この結果、気象のみでも花粉症の症状を左右していることが分かった。

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎の現状の治療には医療機関にかななければならず、完全に症状抑制することも難しい。アレルギー性鼻炎患者人口は国際的にも莫大で、日本を含め世界の医療経済も圧迫してゆく可能性があり、各国で医療用医薬品の OTC（over the counter）化も進められている。米国ではアレルギー性鼻炎従業員一人あたりの経済損失は平均 593 ドルと代表的な疾患の中で最も高かった（Lamb C.E. et al. Current Medical Research and Opinion; 22(6);1203-1210,2006）。この状況から、また新しい医療の方向性として代替医療の考え方が進行している。乳酸菌のプロバイオティクスやケルセチン（商品名エミール）を

はじめとするフラボノイドの抗酸化作用による治療がその代替医療の役割を担おうと考えられている。しかし、現在まで科学的根拠に基づくエビデンスは少ない。我々は 2007 年に行われた乳酸菌粉末（OLL2809）の二重盲検比較試験と玉ネギの外皮から抽出したケルセチンを多く含む粉末（エミール[®]）のオープン試験を実施した。乳酸菌についてはその抗アレルギー効果の基礎的研究を行った。またセルフケアとしてのマスクの研究を行った。気象条件が患者の QOL とその年の気象条件がどのような関係にあるかも検討を行った。

B. 研究方法

①花粉症患者を対象に OLL2809 のプラセボ対照比較試験を行った。アレルギー日記、QOL アンケート、鼻内所見により評価した。

②ケルセチンの花粉症への効果をオープン臨床試験で検討した。

③マスクの実験では花粉飛散最盛期に同じ地点でマスクをした被検者としていない被検者の鼻内花粉数を比較検討した。またメガネも同様に検討した。

④スギ花粉抗原で感作した BALB/c マウスにスギ花粉抽出抗原液を腹腔内投与して好酸球の増多を誘発し、乳酸菌 *L. gasseri* OLL2809 (1×10^9 cells)、*L. paracasei* KW3110 (1.2×10^9 cells)、*L. acidophilus* L-92 (8.6×10^9 cells) による抑制効果を検証した。

⑤2003 年から 2009 年での QOL 街頭アンケートの結果とその年のスギ花粉飛散季節の気象条件との関連性をみた。

C. 結果

①自覚症状では 2 週後の鼻症状+薬剤スコアが OLL2809 群でプラセボ群に対して有意な低下が認められた。また血中 Eotaxin が OLL2809 群で低下した。スギ特異的 IgE 高値の症例では症状の改善と 4 週目、8 週目での QOL の改善が認められた。

②症状と QOL からは効果があった事を検証する事は出来なかった。1 週間後ごとの日記からは目の症状と鼻の症状が週を追うごとに良好化し、8 週間目でおよそ倍に良くなる傾向があった。

③実際の鼻内花粉数はマスクなしで 27.8 ± 7.4 で、マスクありで 22.0 ± 4.6 だった。しかし、空中飛散花粉を基準にするとそれぞれ 3.55 ± 1.15 、 1.73 ± 0.53 でマスクは有意に鼻内の花粉を減少させた。

④感作モデルにおいて腹腔洗浄液中の好酸球比率は *L. gasseri* 8.7%、*L. paracasei* 14.7%、*L. acidophilus* 10.2% と変動した。また好酸球抑制率はそれぞれ 50%、12%、56% で、好酸球浸潤を抑制した。

⑤JRQLQ No1 の項目は最高気温、最低気温、平均気温、湿度、風速と逆相関し、一部最少湿度と順相関した。JRQLQ No2 では雨量と咽頭の症状が、最高気温、最低気温、平均気温、湿度が一部の症状と逆相関した。

D. 考察

乳酸菌の報告では症状の軽快が、特異的 IgE の高値の症例で明らかだった。IgE 値の低い症例では Th2 の有意性が低く、乳酸菌のような Th1 アジュバントでは変化を生じさせにくいのかもれない。基礎実験からは乳酸菌の作用は好酸球を抑制する作用であり、Th2 の抑制から臨床試験の結果を裏打ちできた。一方、ケルセチンの効果は抗酸化作用によるものと考えられた。またマスクの有効性が明らかになったが、風の強い日には効果が少なかった。今後、これらの健康食品は基礎的な研究も合わせ、医療の分野でも認められるエビデンスが求められる。

気象条件の変動はスギの花粉の飛散パターンを変化させ、QOL を左右することが判明した。最高気温の上昇は花粉飛散を促進し、湿度の上昇は花粉飛散を抑制する可能性があり、症状や QOL に影響を与えているものと考えられる。

E. 結論

増加する花粉症を含むアレルギー性鼻炎に対して医療の占める部分は重要であるが、医療経済などの問題から代替医療の必要性は疑い余地がない。今回の臨床試験では乳酸菌食品、ケルセチン食品の検討を行ったが、まだエビデンスレベルは低く、国民に推奨するまでには行かない。マスクに関しては花粉の進入阻止という点では明らかな効果があるが、今回の実験で精度の高いエビデンスが伝えられなかった。以前より Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) ではエビデンスレベル D と低値であり、新しいエビデンスが必要である。また今後は食品に関しても試験の精度を向上させ、より高いレベルのエビデンスにより国民へ正しい代替医療の情報を伝えな

ければならない。また気象条件の影響でスギ花粉症の QOL が変化することが考えられた。

F. 研究発表

1. Okubo K, Gotoh M: Inhibition of the antigen provoked nasal reaction by second-generation antihistamines in patients with Japanese cedar pollinosis. *Allergology International* 55: 261-269, 2006.
2. Okubo K, Ogino S, Nagakura T, Ishikawa T: Omalizumab is effective and safe in the treatment of Japanese cedar pollen-induced seasonal allergic rhinitis. *Allergology International* 55: 379-386, 2006.
3. Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Tsubaki S, Fujita M, Suematsu K, Gotoh M, Okubo K: Preliminary study on Japanese cedar pollinosis in an artificial exposure chamber (OHIO chamber). *Allergology International* 56(2): 125-130, 2007.
4. Okubo K, Nagakura T: Anti-IgE antibody therapy for Japanese cedar pollinosis. *Allergology International* 57: 205-209, 2008
5. Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Suematsu K, Tsubaki S, Nagakura H, Kitajima S, Gotoh M, Okubo K: Pilot study of Japanese cedar pollen exposure using a novel artificial exposure chamber (OHIO chamber). *Clin Exp Allergy Rev* 8: 30-36, 2008
6. Okubo K, Baba K: Therapeutic effect of montelukast, a cysteinyl leukotriene receptor 1 antagonist, on Japanese patients with seasonal allergic rhinitis. *Allergology International* 57: 247-255, 2008
7. Okubo K, Gotoh M, Fujieda S, Okano M, Yoshida H, Morikawa H, Masuyama K, Okamoto Y, Kobayashi M: A randomized double-blind comparative study of sublingual immunotherapy for cedar pollinosis. *Allergology International* 57: 265-275, 2008
8. Okubo K, Nakashima M, Miyake N, Komatsubara M, Okuda M: Dose-ranging study of fluticasone furoate nasal spray for Japanese patients with perennial allergic rhinitis. *Curr Med Res Opin* 24: 3393-3403, 2008.
9. Sakashita M, Yasuda K, Hirota T, Harada M, Ohkubo K, Osawa Y, Fujieda S, Nakamura S, Nakanishi K, Yoshimoto T, Tamari M: Association of serum IL-33 level and the IL-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clin Exp Allergy* 38: 1818-1881, 2008.
10. Okano M, Otsuki N, Azuma M, Fujiwara T, Kariya S, Sugata Y, Higaki T, Kino K, Tanimoto Y, Okubo K, Nishizaki K: Allergen-specific immunotherapy alters the expression of BTLA, a co-inhibitory molecule, in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 38: 1891-1900, 2008.
11. Okubo K, Nakashima M, Miyake N, Komatsubara M, Okuda M: Comparison of fluticasone furoate and fluticasone propionate for the treatment of Japanese cedar pollinosis. *Allergy Asthma Proc* 2009; 29: 1-11.
12. Sashihara T, Ikegami S, Sueki N, Yamaji T, Kino K, Takemoto N, Gotoh M, Okubo K: Oral administration of heat-killed *Lactobacillus gasseri* OLL2809 reduces cedar pollen antigen-induced peritoneal eosinophilia in mice. *Allergology International* 57: 397-403, 2008
13. Okubo K, Nakashima M, Miyake N, Komatsubara M, Okuda M: Comparison of fluticasone furoate and fluticasone propionate for the treatment of Japanese cedar pollinosis. *Allergy Asthma Proc* 30:84-94, 2009.
14. Ogino S, Nagakura T, Okubo K, Sato N, Takahashi M, Ishikawa T: Re-treatment with omalizumab at one year interval for Japanese cedar pollen-induced seasonal allergic rhinitis is effective and well tolerated. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149:239-245, 2009.
15. Sasaki K, Okamoto Y, Yonekura S, Okawa T, Horiguchi S, Chazono H, Hisamitsu, Sakurai D,

- Hanazawa T, Okubo K. Cedar and cypress pollinosis and allergic rhinitis: Quality of life effects of early intervention with leukotriene receptor antagonists. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149: 350-358, 2009.
16. Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Suematsu K, Tsubaki S, Nagakura H, Kitajima S, Gotoh M, Okubo K. Validation study of the OHIO chamber in patients with Japanese Cedar pollinosis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 149:141-149, 2009.
 17. Hashiguchi K, Tang H, Fujita T, Suematsu K, Gotoh M, Okubo K. Bepotastine besilate OD tablets suppress nasal symptoms caused by Japanese cedar pollen exposure in an artificial exposure chamber (OHIO Chamber). *Expert Opin. Pharmacother.* 10: 523-9, 2009.
 18. Gotoh M, Sashihara T, Ikegami S, Yamaji T, Kino K, Orii N, Taketomo N, Okubo K. Efficacy of Oral Administration of a Heat-Killed *Lactobacillus gasseri* OLL2809 on Patients of Japanese Cedar Pollinosis with High Japanese-Cedar Pollen-Specific IgE. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 73: 90144-1-7, 2009.
 19. Yonekura S, Okamoto Y, Okubo K, Okawa T, Gotoh M, Suzuki H, Kakuma T, Horiguchi S, Hanazawa T, Konno A, Okuda M. Beneficial effects of leukotriene receptor antagonists in the prevention of cedar pollinosis in a community setting. *J. Invest. Allergol. Clin. Immunol.* 19:195-200, 2009.
 20. Yamanaka KI, Yuta A, Kakeda M, Sasaki R, Kitagawa H, Gabazza EC, Okubo K, Kurokawa I, Mizutani H. Induction of IL-10-producing regulatory T cells with TCR diversity by epitope-specific immunotherapy in pollinosis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 124:842-845, 2009.
 21. 湯田厚司, 宮本由起子, 萩原仁美, 服部玲子, 大久保公裕: 小児スギ花粉症に対する抗原特異的舌下免疫療法アレルギー. 58: 124-132, 2009.
 22. 菅原一真, 御厨剛史, 橋本誠, 大久保公裕, 山下裕司: プランルカスト水和物追加投与の花粉症に対する短期 QOL 改善効果. アレルギー・免疫 16: 92-98, 2009.
 23. 村山貢司, 馬場廣太郎, 大久保公裕: スギ花粉症有病率の地域差について. アレルギー 59:47-54, 2010.
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)
特になし

アレルギー治療の作用機序の解析に関する研究

研究分担者 中山 俊憲 千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学 教授

研究要旨

アレルギー疾患に対する代替医療について、科学的評価が可能なものについては作用機序の検討を行い、代替医療の問題点を明らかにすると同時に有用である可能性を明らかにする。実際には、基礎免疫学の立場から、アレルギーに対する代替医療（乳酸菌等プロバイオティクス投与など）の作用機序の解明に向けた基礎研究を行う。I型アレルギーの発症は Th1/Th2 のバランスによって制御されていることがわかっており、まずは Th1/Th2 のバランスの制御に注目し、これらに作用するかどうか等の検討を行う。また、Th2 免疫反応に関与する樹状細胞、マスト細胞、レギュラトリート細胞、NKT 細胞などの関与に関して検討を行う。これによって、作用機序の解明を目指す。また、アレルギー発症の要の細胞であるメモリーTh2 細胞の成立、生存、機能維持に関する分子レベルでの検討、ならびに CD69 分子をターゲットにしたアレルギー性炎症の制御に関する基礎研究をおこなう。総合的な細胞レベル及び分子レベルの研究により、乳酸菌等プロバイオティクス等の作用機序を明らかにしたい。

A. 研究目的

基礎免疫学の立場から、アレルギーに対する代替医療（乳酸菌等プロバイオティクス投与など）の作用機序の解明に向けた基礎研究を行う。本年度は、アレルギー発症の要の細胞であるメモリーTh2 細胞の成立、生存、機能維持に関する分子レベルでの検討、ならびに CD69 分子をターゲットにしたアレルギー性炎症の制御に関する基礎研究をおこなうことを目的とした。

B. 研究方法

抗原(アレルゲン)特異的な TCR を持つエフェクターTh2 細胞から生体内で大量のメモリーT 細胞を作る系を樹立した。この系では、 5×10^6 程度のメモリーTh1/Th2 細胞を得ることができる。それを使って1.クロマチンレベルの解析（転写活性と相関するヒストン H3-K9 のアセチル化、ヒストン H3-K4 のメチル化を指標に）を行った。2.ポリコム分子やトライソラックス分子のノックアウトマウスを用いて、メモリーTh2 細胞の形成と機能維持に関する研究を行った。3.CD69 ノックアウトマウスを用いてアレルギー性気道炎症発症と持続の制御に関する研究を行った。4.ポリコム遺伝子の一つである RING1B のコンディショナルノックアウトマウスでのメモリーT 細胞の形成に注目してフローサイトメトリー、定量的PCR を中心に解析を行った。ノックアウトマウスの T 細胞での、肺内浸潤 Th2 細胞のアポトーシスに関する分子機構を、特に BH3 only protein

の発現を中心に解析した。エフェクターTh2 細胞ではなく、メモリーTh2 細胞のみによって誘導される、アレルギー性気道炎症発症の実験系を樹立し、CD69 ノックアウトマウスを用いてアレルギー性気道炎症発症・病態形成における CD69 の役割を解析した。抗 CD69 抗体を用いてアレルギー性気道炎症の治療効果を解析した。

トマト(*Solanum lycopersium* L.)にはいろいろな生理作用が報告されており、種々のがんに対する予防効果や血圧降下作用はよく知られている。トマトの果皮に特有のポリフェノールとしてナリングカルコン(NGC)はサプリメントとして市販されている。実験的には、今までに肥満細胞からのヒスタミン放出抑制作用、マウス I 型アレルギー抗アレルギー作用などが知られていた。今回、OVA 誘導性のマウス喘息モデルで抑制活性を示すかどうか解析を行った。

（倫理面への配慮）

千葉大学の動物実験指針にしたがって動物実験を行った。

C. 研究結果

次の4点の結果が得られた。1. ポリコム分子の一つである RING1B のノックアウトマウスでは、Th1/Th2 とともにメモリー細胞が形成されないことが分かった。2. その機序として細胞の生存に関わる分子 BIM と BID の発現調節ができなくてアポトーシスが亢進しているためであるこ

とが分かった。生体レベルでの解析で、メモリーTh2細胞によるアレルギー性気道炎症発症が起こらないことも分かった (Suzuki, A. et al. *J. Immunol.* in press)。3. CD69 ノックアウトマウスでは気道炎症反応が低いこと、Th2細胞の浸潤が弱いこと。また、抗CD69抗体の投与によって喘息が抑制される (治療効果がある) ことが分かった。アレルゲンの吸入によって一度炎症が起こった後に抗体を投与しても、症状の改善効果が鮮明に見られることが明らかになった (Hosokawa, M. T. et al, *J. Immunol.* 2009)。4. トマトの果皮由来成分であるナリングカルコン(NGC)が、マウス喘息モデルで、Th2免疫反応を抑制し (IL-4, IL-5, IL-13の産生抑制を介して)、好酸球の気道への浸潤抑制、粘液産生抑制など抑制活性を示すことを明らかにした。 (Iwamura et al. *Allergy International* in press)

D. 考察

アレルギー患者では、アレルゲン特異的なメモリーTh2細胞が症状の発症に深く関わっている。今回、細胞の生存維持に関与するポリコム分子に関して解析を行い、メモリーTh1/Th2細胞形成に関わる重要な機能が明らかになった。このことは、この分子の活性を制御することで、アレルゲン特異的なメモリーTh2細胞の抑制を通じてTh2細胞に焦点を当てたアレルギーワクチンの治療法開発の可能性が示唆される。これは新規のストラテジーとして重要な方向性を示すものであるといえる。サプリメントとして市販されているトマトの果皮由来成分であるナリングカルコン(NGC)の作用機序の解明とともに、喘息にも抑制作用が有ることが科学的に明らかになったことは意義が大きいと考えている。今後、正常のヒトやアレルギー患者、また代替医療 (乳酸菌等プロバイオティクス投与など) を行った患者等においてのメモリーTh2細胞でのRING1Bの発現量と機能相関に関して解析したい。また、CD69分子に関しては、ヒト化抗体の作成に力を注ぎ、この分子をターゲットにした抗体療法の開発と、代替医療を行った患者等においてCD69の発現について解析を行いたい。

E. 結論

メモリーTh2細胞の形成に重要な分子としてRING1Bの同定を行った。また、CD69分子がアレルギー性気道炎症の発症に重要で、この分子をターゲットにした抗体療法の開発の可能性が提示された。また、ナリングカルコン(NGC)の作用機序が明らかになった。

代替医療 (乳酸菌等プロバイオティクス投与など) を行った種々の患者において、ポリコムやCD69に焦点を当てたアレルゲン特異的なヒトTh2細胞の機能修飾の解析マウスと喘息モデルでの生体レベルでの解析の有用性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kaneko, T., Hosokawa, H., Yamashita, M., Wang, C. R., Hasegawa, A., Kimura, Y. M., Kitajima, M., Kimura, F., Miyazaki, M., and Nakayama, T.: Chromatin remodeling at the Th2 cytokine gene loci in human type 2 helper T cells. *Mol. Immunol.* 44:2249-2256 (2007).
2. Iwamura, C., and Nakayama, T.: Role of a-galactosylceramide-activated V α 14 natural killer T cells in the regulation of allergic diseases. *Allergy International* 56:1-6 (2007).
3. Nakamatsu, M., Yamamoto, N., Hatta, M., Nakasone, C., Kinjo, T., Miyagi, K., Uezu, K., Nakamura, K., Nakayama, T., Taniguchi, M., Iwakura, Y., Kaku, M., Fujita, J., and Kawakami, K.: Role of interferon-g in V α 14⁺ natural killer T cell-mediated host defense against *Streptococcus pneumoniae* infection in murine lungs. *Microbes and Infection* 9:364-374 (2007).
4. Kimura, Y. M., Iwamura, C., Suzuki, A., Miki, T., Hasegawa, A., Sugaya, K., Yamashita, M., Ishii, S., and Nakayama, T.: Schnurri-2 controls memory Th1 and Th2 cell numbers *in vivo*. *J. Immunol.* 178:4926-4936 (2007).
5. Iwamura, C., Kimura, Y. M., Shinoda, K., Endo, Y., Hasegawa, A., Yamashita, M., and Nakayama, T.: Schnurri-2 regulates T_H2-dependent airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *Int. Immunol.* 19:755-762 (2007).
6. Masuda, K., Kakugawa, K., Nakayama, T., Minato, N., Katsura, Y., and Kawamoto, H.: T cell lineage determination precedes the initiation of TCR β gene rearrangement. *J. Immunol.* 179:3699-3706 (2007).
7. Yamamoto, H., Okamoto, Y., Horiguchi, S., Kunii, N., Yonekura, S., and Nakayama, T.: Detection of natural killer T cells in the sinus mucosa from asthmatics with chronic sinusitis. *Allergy* 62:1451-1455 (2007).
8. Kimura, Y. M., Iwamura, C., Suzuki, A., Kitajima, M., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Yamashita, M., and Nakayama, T.: Schnurri-2 controls the generation of memory Th1 and Th2 cells. *13th International congress of Immunology* 475-479 (2007).

9. Yamashita, M., Onodera, A., and Nakayama, T.: Immune mechanisms of allergic airway diseases: Regulation by transcription factors. *Crit. Rev. Immunol.* 27:539-546 (2007).
10. Uchida, T., Horiguchi, S., Tanaka, Y., Yamamoto, H., Kunii, N., Motohashi, S., Taniguchi, M., Nakayama, T., and Okamoto, Y.: Phase I study of α -galactosylceramide-pulsed antigen presenting cells administration to the nasal submucosa in unresectable or recurrent head and neck cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 57:337-345 (2008).
11. Kitajima, M., Abe, T., Miyano, K. N., Taniguchi, M., Nakayama, T., and Takaku, H.: Induction of natural killer cell-dependent antitumor immunity by the *Autographa californica multiple nuclear polyhedrosis virus*. *Mol. Ther.* 16:261-268 (2008).
12. Motohashi, S., and Nakayama, T.: Clinical applications of natural killer T cell-based immunotherapy for cancer. *Cancer Sci.* 99:638-645 (2008)..
13. Yamashita, M., and Nakayama, T.: Progress in allergy signal research on mast cells: Regulation of allergic airway inflammation through toll-like receptor 4-mediated modification of mast cell function. *J. Pharmacol. Sci.* 106:332-335 (2008).
14. 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).
15. 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).
16. 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)
17. 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).
18. 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).
19. 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).
20. 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).
21. 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).
22. 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).
23. 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).
24. 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 α -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.* 182:2492-2501 (2009).
25. Nakayama, T., and Yamashita, M.: Critical role of the Polycomb and Trithorax complexes in the

maintenance of CD4 T cell memory. *Semin. Immunol.* 21:78-83 (2009).

26. Hosokawa, M. T., Hasegawa, A., Iwamura, C., Shinoda, K., Tofukuji, S., Watanabe, Y., Hosokawa, H., Motohashi, S., Hashimoto, K., Shirai, M., Yamashita, M., and Nakayama, T.: CD69 controls the pathogenesis of allergic airway inflammation. *J. Immunol.* 183:8203-8215 (2009).
27. Iwamura, C., Shinoda, K., Yoshimura, M., Watanabe, Y., Obata, A., and Nakayama, T.: Naringenin chalcone suppresses allergic asthma by inhibiting the type-2 function of CD4 T cells. *Allergology International* in press.

2. 学会発表

1. Hashimoto, K., Suzuki, T., Sakai, R., Miyazawa, Y., Saito, R., Yamamoto, H., Nakayama, T., Miyano-Kurosaki, N., and Takaku, H.: Innate immunity activation in mouse dendritic cells infected by Baculovirus. Immunology 2007, May 18-22, Miami beach, FL, USA
2. Motohashi, S., Kunii, N., Yamamoto, H., Okita, K., Nagato, K., Fujisawa, T., Taniguchi, M., and Nakayama, T.: A phase I/II study of α GalCer-pulsed dendritic cells in patients with advanced or recurrent non-small cell lung cancer. 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2007 October 3-5, Yokohama
3. Motohashi, S., Kunii, N., Yamamoto, H., Okita, K., Nagato, K., Taniguchi, M., and Nakayama, T.: 原発性肺癌に対する NKT 細胞免疫療法/A Phase I/II study of α GalCer-pulsed dendritic cells lung cancer. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
4. 岩村千秋、鈴木茜、篠田健太、太刀川彩保子、中山俊憲 転写因子 Schnurri-2 によるアレルギー気道炎症制御 /Schnurri-2 regulates Th2-dependent airway inflammation and airway hyperresponsiveness. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
5. Yamamoto, H., Okamoto, Y., Horiguchi, S., Kunii, N., and Nakayama, T.:慢性副鼻腔炎の病態形成に及ぼす喘息合併の意義-NKT 細胞とサイトカイン産生の検討から-/Detection of natural killer T cells in the sinus mucosa from asthmatics with chronic sinusitis. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
6. 青柳哲史、内山美寧、國島広之、八田益充、仲村究、位田剣、宮里明子、伊藤俊広、中山俊憲、賀来満夫、川上和義 23 価肺炎球菌ワクチン接種症例における自然免疫リンパ球の動態に関する検討/Analysis of innate immune lymphocytes in patients with injection of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
7. 鈴木茜、木村元子、岩村千秋、Hossain, M. B., 北島雅之、遠藤裕介、堀内周、山下政克、中山俊憲 Schnurri-2 によるメモリー-Th1/Th2 細胞形成調節/Schnurri-2 controls memory Th1 and Th2 cell numbers *in vivo*. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
8. Yamashita, M., Kuwahara, M., Shinnakasu, R., 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 細胞の生存を維持する/Bmi1 regulates memory Th cell survival via repression of the Noxa gene. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
9. Hoshino, A., Nagao, T., Miura, N., Ohno, N., Nakayama, T., and Suzuki, K.: MPO-ANCA induces IL-17A production by activated neutrophils of murine systemic vasculitis. 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会 2007 年 11 月 20-22 日、品川
10. Hosokawa, H., Yamashita, M., Koseki, H., van Lohuizen, M., and Nakayama, T.: Regulation of Th2 cell development by Polycomb group gene bmi-1 through the stabilization of GATA3. Chromatin Structure & Function, 2007 Nov 27-30, Antigua
11. 山下政克、桑原誠、新中須亮、細川裕之、中山俊憲 Bmi1 は Noxa 遺伝子の発現調節を介してメモリー-CD4 T 細胞の生存を制御する 第 30 回日本分子生物学会年会 第 80 回日本生化学学会大会 合同大会 BMB2007 2007 年 12 月 11-15 日、横浜
12. 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, 2/22/2008, Denver, USA
13. Nakayama, T.: Initiation and maintenance of Th2 cell identity: Regulation by Polycomb and Trithorax group molecules. Karp Family Research Laboratories, One Blackfan Circle, 10th Floor Conference Room, 3/3/2008, Boston, USA
14. 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), 4/4/2008, USA
15. Nakayama, T.: Bmi1 regulates memory Th2 cell survival via repression of the Noxa gene. Experimental Biology 2008, San Diego Convention Center, 4/5-9/2008, San Diego, USA
 16. 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 2008年6月7日、札幌
 17. Nakayama, T.: Regulation of memory Th2 cell survival and function by the Polycomb group and Trithorax group gene products. Immunochimistry & Immunobiology, Magdalen College, 8/17-22/2008, Oxford, UK
 18. 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 2008年9月5日、千葉
 19. 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 2008年9月19-21日、大阪
 20. 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 2008年12月1-3日、京都
 21. Iwamura, C., Onodera, A., and Nakayama, T.: *Schnurri-2* regulates Th2-dependent airway inflammation and airway hyperresponsiveness. Keystone Symposia 2008, February 24-29, Colorado, USA
 22. Nakayama, T., Kunii, N., Onodera, A., Motohashi, S., Taniguchi, M., and Okamoto, Y.: Combination therapy of *In vitro* expanded natural killer T cells and α -galactosylceramide-pulsed antigen presenting cells in patients with recurrent head and neck carcinoma. Keystone Symposia 2008, February 24-29, Colorado, USA
 23. 楠怜奈、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⁺B220⁺CD69⁺細胞の減少 第14回MPO研究会 2008年10月24-25日、東京
 24. 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-17RB 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 2008年12月1-3日、京都
 25. 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 2008年12月1-3日、京都
 26. 稲嶺絢子、岩佐拓幸、大川翼、黒崎元良、堀口茂俊、中山俊憲、岡本美孝 乳酸菌を用いたアレルギー性鼻炎抑制効果の検討 / Effect of Lactic acid Bacteria on the development of Allergic rhinitis during the Japanese cedar pollen season. 第38回日本免疫学会総会・学術集会 2008年12月1-3日、京都
 27. 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 2008年12月1-3日、京都
 28. 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 2008年12月1-3日、京都
 29. 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 2008年12月1-3日、京都
 30. 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 2008年12月1-3日、京都
 31. 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 2008年12月1-3日、京都