

### III. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

新しい制御性 T 細胞体外増幅法による喘息治療法の開発

分担研究項目：マスト細胞由来の Treg 増幅因子の研究

分担研究者：中江 進 東京大学医科学研究所フロンティア研究拠点 特任准教授

研究要旨：申請者らは、IL-33+培養マスト細胞による Treg 体外増幅共培養系において、細胞接触および IL-2 が必須であることを見出している。細胞接触についての責任分子の探索のため、Treg 体外増幅培養系に候補となる分子の中和抗体を投与してその効果を探った。その結果、IL-2 の関与と 4-1BBL の部分的な関与が認められた。

#### A. 研究目的

申請者らは、IL-33 と培養マスト細胞による Treg 体外増幅共培養系において、細胞接触および IL-2 が必須であることを見出しており、この知見を精緻化し、cell-free Treg 増幅系への布石とする。前年度までに行ったマイクロアレイによる細胞接触関連分子の探索では、有望な候補分子が抽出出来ていないため、本年度は、共培養における各種副刺激分子の効果について中和抗体を用いて検討することとした。

#### B. 方法

IL-33 によって樹立したマウス培養マスト細胞と、抗体磁気ビーズを用いたネガティブセレクションにより精製したマウス CD4 陽性細胞を IL-33 存在下に共培養し、各種の副刺激分子中和抗体またはアイソタイプコントロール抗体を加えた。7日後、FACSによってCD4+CD25+Foxp3+T細胞の含まれる割合を測定した。ヒトマスト細胞について、IL-33によるマスト細胞の Treg 誘導に IL-2 が関与するかどうかを検討するために、ヒト末梢血由来マスト細胞とヒト CD4+T細胞を rhIL-33 100 ng/mL 存在下に共培養し、抗 IL-2 抗体あるいはアイソタイプコントロール抗体を投与し 3 日後誘導され

る CD4+CD25+Foxp3+T細胞の割合を FACS で解析した。

#### C. 結果

FACS 解析の結果、抗 4-1 BBL 抗体投与時に僅かな Treg 増幅の低下が認められた。一方で、CD80, CD86, ICAM1, FasL に対する中和抗体には抑制効果が認められなかった。

ヒト末梢血由来マスト細胞とヒト CD4+T細胞の共培養による Treg 増幅では、アイソタイプコントロール抗体と比較して抗 IL-2 抗体投与によって CD4+CD25+Foxp3+T細胞の誘導が半分程度にまで抑制された。したがって、ヒトにおいても IL-33によるマスト細胞の Treg 誘導には IL-2 が関与していることが示唆された。

#### D. 考察

ヒト末梢血由来培養マスト細胞とヒト CD4+T細胞を用いた共培養からも Treg 増幅に IL-2 が必須であることが確認されたことから、ヒトにおけるエビデンスを強化できた。僅かではあるが 4-1BBL の関与が伺われた。Treg を誘導しうるマスト細胞由来細胞接着因子には単一ではなく複数の因子が同時並行的

に関わる可能性も考えられた。Treg を誘導しうるマスト細胞由来細胞接着因子探索のため、共刺激分子阻害抗体の組み合わせ投与と、他の候補分子の阻害抗体による Treg 増幅効果への影響を検討する必要があると考えられる。また、次年度はヒト培養マスト細胞でも、その効果を確認する計画である。

#### E. 結論

IL-33 と培養マスト細胞による Treg 体外増幅共培養系において IL-2 のほか 4-1BBL の部分的な関与が示唆された。複数の分子によるのか、他の分子によるのか、細胞接着因子についてはさらなる絞り込みとヒト培養マスト細胞を用いた確認が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Ishii A, Oboki K, Nambu A, Morita H, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Sudo H, Okumura K, Saito H, Nakae S. Development of IL-17-mediated delayed-type hypersensitivity is not affected by down-regulation of IL-25 expression. *Allergol Int.* 2010;59(4):399-408.

Itoh S, Nakae S, Axtell RC, Velotta JB, Kimura N, Kajiwara N, Iwakura Y, Saito H, Adachi H, Steinman L, Robbins RC, Fischbein MP. IL-17 contributes to the development of chronic rejection in a murine heart transplant model. *J Clin Immunol.* 2010;30(2):235-240.

Itoh S, Nakae S, Velotta JB, Kosuge H, Connolly A, Tsai M, Adachi H, Galli SJ, Robbins RC, Fischbein MP. The role of recipient mast cells in acute and chronic cardiac allograft rejection in C57BL/6-KitW-sh/W-sh mice. *J Heart Lung*

*Transplant.* 2010;29(4):401-409.

Jin SL, Goya S, Nakae S, Wang D, Bruss M, Hou C, Umetsu D, Conti M. Phosphodiesterase 4B is essential for T(H)2-cell function and development of airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(6):1252-1259 e1212.

Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Ishii A, Sunnarborg SW, Okumura K, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for ovalbumin-induced acute airway inflammation in mice. *Allergol Int.* 2010;59(2):207-211.

Nakajima A, Matsuki T, Komine M, Asahina A, Horai R, Nakae S, Ishigame H, Kakuta S, Saijo S, Iwakura Y. TNF, but not IL-6 and IL-17, is crucial for the development of T cell-independent psoriasis-like dermatitis in *Il1rn*<sup>-/-</sup> mice. *J Immunol.* 2010;185(3):1887-1893.

Nambu A, Nakae S. IL-1 and Allergy. *Allergol Int.* 2010;59(2):125-135.

Oboki K, Nakae S, Matsumoto K, Saito H. IL-33 and Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2011;3(2):81-88.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(43):18581-18586.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Saito H, Nakae S.

IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases. *Allergol Int.* 2010;59(2):143-160.

Oh I, Ozaki K, Meguro A, Hatanaka K, Kadowaki M, Matsu H, Tatara R, Sato K, Iwakura Y, Nakae S, Sudo K, Teshima T, Leonard WJ, Ozawa K. Altered effector CD4+ T cell function in IL-21R-/- CD4+ T cell-mediated graft-versus-host disease. *J Immunol.* 2010;185(3):1920-1926.

Okamoto Yoshida Y, Umemura M, Yahagi A, O'Brien RL, Ikuta K, Kishihara K, Hara H, Nakae S, Iwakura Y, Matsuzaki G. Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung. *J Immunol.* 2010;184(8):4414-4422.

Yagami A, Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Morita H, Sunnarborg SW, Okumura K, Ogawa H, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for induction of contact hypersensitivity. *Allergol Int.* 2010;59(3):277-284.

Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity.* 2011;34(2):149-162.

Meguro A, Ozaki K, Hatanaka K, Oh I, Sudo K, Ohmori T, Matsu H, Tatara R, Sato K, Sakata Y, Nakae S, Leonard WJ, Ozawa K. Lack of IL-21 signal attenuates graft-versus-leukemia effect in the absence of CD8 T-cells. *Bone Marrow Transplant.* 2011.

## 2. 学会発表

### 招待講演（国内）

(1) 中江 進、「アレルギー疾患における

サイトカイン Up-to-date」(特別講演)、第2回 順天堂眼アレルギー研究会（東京）、2011年2月23日

(2) 中江 進、「IL-33とアレルギー」(特別講演)、第19回関東アレルギークラブ(東京)、2011年2月12日

(3) 中江 進、「皮膚炎におけるサイトカイン Up-to-date」(特別講演)、第1回皮膚科最新医療研究会（名古屋）、2010年10月15日

(4) 中江 進、「IL-33/マスト細胞」(シンポジウム)、第75回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会（北九州市）、2010年6月25日

(5) 中江 進、「肺および皮膚免疫におけるIL-17の役割の解析」(受賞講演)、第12回花王研究奨励賞（東京）、2010年6月11日

### 口頭発表（国際）

(1) Itoh S, Kimura N, Nakae S, Axtell RC, Velotta JB, Wang X, Iwakura Y, Steinman L, Robbins RC, Fischbein MP. "IL-17 accelerates allograft rejection by suppressing regulatory T cell expansion." American Heart Association Scientific Sessions (Chicago, IL, USA), Nov 13, 2010

(2) Sawaguchi M, Tanaka S, Mukai K, Ishikawa K, Oboki K, Nakae S, Kambayashi T, Watanabe N, Karasuyama H, Kubo M. "Basophils and mast cells differently regulate allergic response; in vivo demonstration by diphtheria toxin based deletion system" 14th International Congress of Immunology (Kobe, Japan), Aug 24, 2010.

(3) Nakae S. "IL-17 & Allergy" The 17th East Asian Joint Symposium (Taiwan), July 1, 2010.

(4) Kimura N, Itoh S, Vellota JB, Palmer OP, Kosuge H, Bos EJ, Lijkwan M, Kornfeld H, Nakae S, Robbins RC, Fischbein MP. "Anti-apoptotic role of IL-16 associated with attenuation of acute and

chronic cardiac rejection.” 30th anniversary annual meeting and scientific sessions, The International Society for Heart & Lung Transplantation (Chicago, IL, USA), Apr 21, 2010

口頭発表 (国内)

(1) 大保木啓介、大野建州、梶原直樹、新江賢、森田英明、石井明奈、南部あや、阿部高也、清成寛、松本健治、須藤カツ子、奥村康、斎藤博久、中江進「IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity」第20回東京免疫フォーラム (東京)、2011年2月22日

(2) 小島令嗣、大野建州、飯倉元保、仁木敏朗、平島光臣、松原修、松本健治、斎藤博久、中江進「ガレクチン9はLPS刺激によるマスト細胞からのサイトカイン産生を増強する」第60回日本アレルギー学会秋季学術大会 (東京)、2010年11月25日

ポスター発表 (国際)

(1) Yoon J, Lee H, Kang Y, Park H, Deng C, Sudo K, Nakae S, Matsumoto I, Sumida T, Kim O, Oh B, Mamura M. “TGF- $\beta$  signaling through Smad4 suppresses CD8+ cytotoxic T cells by down-regulating Eomesodermin in contact hypersensitivity” 14th International Congress of Immunology (Kobe, Japan), Aug 23, 2010.

(2) Lee H, Yoon J, Kang Y, Park H, Festing

M, Weinstein M, Deng C, Sudo K, Nakae S, Matsumoto I, Sumida T, Kim O, Oh B, Mamura M. “Opposing role of Smad2 and Smad3 in Th17 differentiation in the pathogenesis of collagen-induced arthritis” 14th International Congress of Immunology (Kobe, Japan), Aug 23, 2010.

(3) Umemura M, Yoshida-Okamoto Y, Yahagi A, Nakae S, Iwakura Y, Matsuzaki G. “Essential role of interleukin-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung” 14th International Congress of Immunology (Kobe, Japan), Aug 27, 2010.

(4) Mizuguchi J, Takeda E, Sudo K, Nakae S, Hata K, Furuhata M. “regulation of OVA-induced asthma through activation of JNK2” 14th International Congress of Immunology (Kobe, Japan), Aug 28, 2010.

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

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

新しい制御性 T 細胞体外増幅法による喘息治療法の開発

分担研究項目：マウス喘息モデルの Treg 移入による治療

研究代表者：斎藤 博久 国立成育医療研究センター研究所 副研究所長

研究要旨：動物喘息モデルでは Treg 導入によって炎症と気道過敏性を抑制でき、抗原特異性は必須でないとされる。我々が見出した IL-33 により活性化されたマスト細胞が抗原・TCR 刺激非依存的に Treg をポリクローナルに増幅する機構によって *ex vivo* で Treg を増幅し、マウス気道炎症モデル治療を試みる。最近報告されたケース・コントロールがそれぞれ 1 万人規模の 2 例の大規模なゲノムワイド遺伝子連鎖研究報告により、IL-33 と IL-33 受容体 (Nat Genet. 2009.41.342, N Engl J Med. 2010.363.1211) が喘息のエンドフェノタイプにかかわらず抽出されている。そこで IL-33 依存的な気道炎症モデルの作製を試みたところ、アレルゲンとして知られる papain 吸入が最も簡便な好酸球性気道炎症モデルとなることが明らかとなった。

#### A. 研究目的

動物喘息モデルでは Treg 導入によって炎症と気道過敏性を抑制でき (Immunity 2009.31.438)、抗原特異性は必須でないとされる (J Immunol. 2009.183.1821)。我々が見出した IL-33 により活性化されたマスト細胞が抗原・TCR 刺激非依存的に Treg をポリクローナルに増幅する機構によって *ex vivo* で Treg を増幅し、マウス気道炎症モデル治療を試みる。最近報告されたケース・コントロールがそれぞれ 1 万人規模の 2 例の大規模なゲノムワイド遺伝子連鎖研究報告により、IL-33 と IL-33 受容体 (Nat Genet. 2009.41.342, N Engl J Med. 2010.363.1211) が喘息のエンドフェノタイプにかかわらず抽出されている。そこで IL-33 依存的な気道炎症モデルを作製し、そのモデルを対象として Treg 移入を試みる。

#### B. 研究方法

本年度はマウス喘息モデルのうち、植物アレルゲンである papain の吸入による気道炎症誘

導および検出系構築を IL-33 欠損マウスを使用して行った。肺胞洗浄液評価系として Sysmex 社 XT1800iV、細気管支の気道抵抗測定のため Buxco 社の侵襲的気道抵抗値測定を用いた。

#### C. 結果

マウスへの papain の吸入のみによって好酸球優位の気道炎症が起きることを確認した。並行して我々は IL-33 欠損マウスの作製に成功し、OVA を抗原とする汎用喘息モデル、家ダニ抽出物吸入による喘息モデル、植物アレルゲンである papain 吸入による喘息モデルのいずれでも、好酸球性気道炎症の減弱を確認した (Proc Acad Natl Sci USA, 2010;107(43):18581-18586)。なかでも papain 吸入喘息モデルでの好酸球性炎症はほぼ完全に IL-33 に依存していた。Papain を熱処理し酵素活性を失活させた場合には炎症の誘導は見られないことから、この炎症は papain のプロテアーゼ活性に依存することが判明した。さらに OVA を抗原とする汎用喘息モデルでの気道抵抗値は IL-33 欠損マウス

で低下していた。

#### D. 考察

IL-33 が喘息のエンドフェノタイプに関わらず見出される喘息関連遺伝子として注目を集めている。上記の papain 吸入による好酸球性気道炎症は IL-33 依存的であることを我々は見出した。さらに、OVA を抗原とする汎用喘息モデルでの観察結果から、IL-33 は気道病態生理学的にも重要な働きを有すると考えられた。

#### E. 結論

喘息のエンドフェノタイプによらない喘息関連遺伝子 IL-33 が植物アレルゲン papain の吸入による気道炎症に必須であることが判明した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Oboki K, Nakae S, Matsumoto K, Saito H. IL-33 and Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2011;3(2):81-88.

Ebihara T, Azuma M, Oshiumi H, Kasamatsu J, Iwabuchi K, Matsumoto K, Saito H, Taniguchi T, Matsumoto M, Seya T. Identification of a polyI:C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J Exp Med.* 2010;207(12):2675-2687.

Fukuie T, Nomura I, Horimukai K, Manki A, Masuko I, Futamura M, Narita M, Ohzeki T, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. Proactive treatment appears to decrease serum immunoglobulin-E levels in patients with severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol.*

2010;163(5):1127-1129.

Futamura K, Orihara K, Hashimoto N, Morita H, Fukuda S, Sagara H, Matsumoto K, Tomita Y, Saito H, Matsuda A. beta2-Adrenoceptor agonists enhance cytokine-induced release of thymic stromal lymphopoietin by lung tissue cells. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152(4):353-361.

Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. TSLP Promoter Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010 Jul 23. [Epub ahead of print]

Ishii A, Oboki K, Nambu A, Morita H, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Sudo H, Okumura K, Saito H, Nakae S. Development of IL-17-mediated delayed-type hypersensitivity is not affected by down-regulation of IL-25 expression. *Allergol Int.* 2010;59(4):399-408.

Itoh S, Nakae S, Axtell RC, Velotta JB, Kimura N, Kajiwara N, Iwakura Y, Saito H, Adachi H, Steinman L, Robbins RC, Fischbein MP. IL-17 contributes to the development of chronic rejection in a murine heart transplant model. *J Clin Immunol.* 2010;30(2):235-240.

Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Ishii A, Sunnarborg

SW, Okumura K, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for ovalbumin-induced acute airway inflammation in mice. *Allergol Int.* 2010;59(2):207-211.

Kajiwara N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, Okayama Y. Activation of human mast cells through the platelet-activating factor receptor. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(5):1137-1145 e1136.

Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, Matsumoto K, Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A. Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the mdx model of Duchenne muscular dystrophy. *J Cell Physiol.* 2010;223(3):695-702.

Matsumoto K, Terakawa M, Fukuda S, Saito H. Analysis of signal transduction pathways involved in anti-CD30 mAb-induced human eosinophil apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152 Suppl 1:2-8.

Miyamoto T, Muneta T, Tabuchi T, Matsumoto K, Saito H, Tsuji K, Sekiya I. Intradiscal transplantation of synovial mesenchymal stem cells prevents intervertebral disc degeneration through suppression of matrix metalloproteinase-related genes in nucleus pulposus cells in rabbits. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(6):R206.

Niyonsaba F, Ushio H, Hara M, Yokoi H, Tominaga M, Takamori K, Kajiwara N, Saito H, Nagaoka I, Ogawa H, Okumura K. Antimicrobial peptides human beta-defensins and cathelicidin

LL-37 induce the secretion of a pruritogenic cytokine IL-31 by human mast cells. *J Immunol.* 2010;184(7):3526-3534.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(43):18581-18586.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Saito H, Nakae S. IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases. *Allergol Int.* 2010;59(2):143-160.

Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, Kaminuma O, Hashimoto N, Shimoyama Y, Saito H, Tomita Y. Overexpression of LEDGF/DFS70 induces IL-6 via p38 activation in HaCaT cells, similar to that seen in the psoriatic condition. *J Invest Dermatol.* 2010;130(12):2760-2767.

Toyoda M, Hamatani T, Okada H, Matsumoto K, Saito H, Umezawa A. Defining cell identity by comprehensive gene expression profiling. *Curr Med Chem.* 2010;17(28):3245-3252.

Tsubota A, Matsumoto K, Mogushi K, Nariai K, Namiki Y, Hoshina S, Hano H, Tanaka H, Saito H, Tada N. IQGAP1 and vimentin are key regulator genes in naturally occurring hepatotumorigenesis induced by oxidative stress. *Carcinogenesis.* 2010;31(3):504-511.

Uesugi H, Sonoo M, Stalberg E, Matsumoto K, Higashihara M, Murashima H, Ugawa Y,

Nagashima Y, Shimizu T, Saito H, Kanazawa I. "Clustering Index method": A new technique for differentiation between neurogenic and myopathic changes using surface EMG. Clin Neurophysiol. 2010.

Yagami A, Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Morita H, Sunnarborg SW, Okumura K, Ogawa H, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for induction of contact hypersensitivity. Allergol Int. 2010;59(3):277-284.

Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, Saito H, Matsuda A. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. J Immunol. 2010;185(10):5743-5750.

Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Kajiwara N, Saito H, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. Catestatin, a neuroendocrine antimicrobial peptide, induces human mast cell migration, degranulation and production of cytokines and chemokines. Immunology. 2011;132(4):527-539.

Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial

symptoms. J Allergy Clin Immunol. 2011;127(3):685-688 e688.

Yamada Y, Matsumoto K, Hashimoto N, Saikusa M, Homma T, Yoshihara S, Saito H. Effect of Th1/Th2 Cytokine Pretreatment on RSV-Induced Gene Expression in Airway Epithelial Cells. Int Arch Allergy Immunol. 2011;154(3):185-194.

## 2. 学会発表

Saito H. Invited Lecture: Role of environment and immunity in the development of childhood allergic diseases. WPAO (West Pacific Allergy Organization) Jinan Forum 2011: Better Environment for Atopic Dermatitis. Jinan, Korea. Jan. 28-29, 2011.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

(審査中)

(1) 制御性 T 細胞の製造方法 (特開 2010-004853)

(2) アトピー素因判定マーカー、アレルギー性皮膚疾患素因判定マーカー及びそれらの使用方法 (特開 2010-207200)

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

新しい制御性 T 細胞体外増幅法による喘息治療法の開発

分担研究項目：マスト細胞による Treg 増幅の最適化

分担研究者：奥村 康 順天堂大学大学院医学研究科 アトピー疾患研究センター センター長

研究要旨：当研究班では、これまでに *in vitro* 培養系で制御性 T 細胞を選択的に効率良く増幅する方法として、IL-33 の存在下で、T 細胞とマスト細胞を共培養する系を確立した一般的に使用されている Treg の誘導法、anti-CD3/CD28 + TGF- $\beta$  では、Treg だけでなく活性化 T 細胞が増えてしまう。したがって、従来の TCR 刺激を使用したシステムは Treg-specific な増幅法とは言いがたい。本年度は、Treg 増幅への TCR 刺激と IL-33、TGF- $\beta$ 、IL-2 の影響評価を目的とし、TCR-MHC-independent な Treg の増幅には IL-33 を加えたマスト細胞との共培養システムの効率が最も良いことを明らかにした。

A. 研究目的

当研究班では、これまでに *in vitro* 培養系で制御性 T 細胞を選択的に効率良く増幅する方法として、IL-33 の存在下で、T 細胞とマスト細胞を共培養する系を確立した。一般的に使用されている Treg の誘導法、anti-CD3/CD28 + TGF- $\beta$  では、Treg だけでなく活性化 T 細胞が増えてしまう。したがって、従来の TCR 刺激を使用したシステムは Treg-specific な増幅法とは言いがたい。本年度は、Treg 増幅への TCR 刺激と IL-33、TGF- $\beta$ 、IL-2 の影響評価を目的とする。

B. 方法

CD4 陽性細胞単独培養あるいはマウス培養マスト細胞と CD4 陽性細胞の共培養を抗 CD2/CD28 抗体による TCR 刺激ありなしの条件で培養し、さらに、IL-33、TGF- $\beta$ 、IL-2 を加えて培養した。7 日後に FACS によって CD4+CD25+Foxp3+T 細胞の含まれる割合を測定した。

C. 結果

CD4 陽性 T 細胞のみへの単純なサイトカイン投与では IL-2 のみが Treg を増幅した。共培養を行わず TCR 刺激を行った場合には TGF- $\beta$  との組み合わせが最も Treg を増幅し、IL-2 や IL-33 はほとんど増幅効果がなかった。共培養を行うと、TCR 刺激が無い場合 IL-33 が最も Treg を増幅でき IL-2 がこれに続いた。共培養で TCR 刺激がある場合、IL-33 が僅かに Treg を増幅したが他のサイトカインは増幅しなかった。全体では、マスト細胞と CD4 陽性 T 細胞の共培養に IL-33 を加えた培養系が最も Treg を増幅できたことから、IL-33 刺激による mast cells の役割が Treg 増幅には重要であった。

D. 考察

TCR-MHC に依存しないポリクローナルな Treg の増幅を行う場合にはマスト細胞との共培養が最も効率が良いことから、マスト細胞を介した IL-33 の効果が重要であると考えられた。高効率な Treg 増幅の最適化のために、これまでに報告のある薬剤の検討とヒト細胞による

確認を行う必要がある。

## E. 結論

TCR-MHC-independentなTregの増幅にはIL-33を加えたマスト細胞との共培養システムの効率が最も良い。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Hoq MI, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. A neuroendocrine antimicrobial peptide, catestatin, stimulates interleukin-8 production from human keratinocytes via activation of mitogen-activated protein kinases. *J Dermatol Sci.* 2011;61(2):142-144.

2. Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Kajiwara N, Saito H, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. Catestatin, a neuroendocrine antimicrobial peptide, induces human mast cell migration, degranulation and production of cytokines and chemokines. *Immunology.* 2011;132(4):527-539.

3. Fujimura J, Takeda K, Kaduka Y, Saito M, Akiba H, Yagita H, Yamashiro Y, Shimizu T, Okumura K. Contribution of B7RP-1/ICOS co-stimulation to lethal acute GVHD. *Pediatr Transplant.* 2010;14(4):540-548.

4. Hirasawa Y, Takai T, Nakamura T, Mitsuishi K, Gunawan H, Suto H, Ogawa T, Wang XL, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. *Staphylococcus aureus* extracellular protease causes epidermal barrier dysfunction. *J Invest Dermatol.* 2010;130(2):614-617.

5. Ishii A, Oboki K, Nambu A, Morita H,

Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Sudo H, Okumura K, Saito H, Nakae S. Development of IL-17-mediated delayed-type hypersensitivity is not affected by down-regulation of IL-25 expression. *Allergol Int.* 2010;59(4):399-408.

6. Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Ishii A, Sunnarborg SW, Okumura K, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for ovalbumin-induced acute airway inflammation in mice. *Allergol Int.* 2010;59(2):207-211.

7. Kanada S, Nishiyama C, Nakano N, Suzuki R, Maeda K, Hara M, Kitamura N, Ogawa H, Okumura K. Critical role of transcription factor PU.1 in the expression of CD80 and CD86 on dendritic cells. *Blood.* 2011;117(7):2211-2222.

8. Le TA, Takai T, Vu AT, Kinoshita H, Chen X, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. Flagellin Induces the Expression of Thymic Stromal Lymphopoietin in Human Keratinocytes via Toll-Like Receptor 5. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;155(1):31-37.

9. Le TA, Takai T, Vu AT, Kinoshita H, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. Glucocorticoids inhibit double-stranded RNA-induced thymic stromal lymphopoietin release from keratinocytes in an atopic cytokine milieu more effectively than tacrolimus. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;153(1):27-34.

10. Ma J, Usui Y, Takeda K, Harada N, Yagita H, Okumura K, Akiba H. TIM-1 signaling in B cells regulates antibody production. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;406(2):223-228.

11. Maeda K, Nishiyama C, Ogawa H, Okumura K. GATA2 and Sp1 positively regulate the c-kit promoter in mast cells. *J Immunol.* 2010;185(7):4252-4260.
12. Nakano N, Nishiyama C, Yagita H, Koyanagi A, Ogawa H, Okumura K. Notch1-mediated signaling induces MHC class II expression through the activation of class II transactivator promoter III in mast cells. *J Biol Chem.* 2011.
13. Nishida C, Nishiyama C, Satoh K, Hara M, Itoh Y, Ogawa H, Okumura K. Establishment of a simple detection system for blood group ABO-specific transferase activity in DNA-transfected cells. *Leg Med (Tokyo).* 2010;12(4):172-176.
14. Niwa Y, Potaczek DP, Kanada S, Takagi A, Shimokawa N, Ito T, Mitsuishi K, Okubo Y, Tajima M, Hobo A, Ng W, Tsuboi R, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K, Nishiyama C. FcepsilonRIalpha gene (FCER1A) promoter polymorphisms and total serum IgE levels in Japanese atopic dermatitis patients. *Int J Immunogenet.* 2010;37(2):139-141.
15. Niyonsaba F, Ushio H, Hara M, Yokoi H, Tominaga M, Takamori K, Kajiwara N, Saito H, Nagaoka I, Ogawa H, Okumura K. Antimicrobial peptides human beta-defensins and cathelicidin LL-37 induce the secretion of a pruritogenic cytokine IL-31 by human mast cells. *J Immunol.* 2010;184(7):3526-3534.
16. Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(43):18581-18586.
17. Ohki M, Ohki Y, Ishihara M, Nishida C, Tashiro Y, Akiyama H, Komiyama H, Lund LR, Nitta A, Yamada K, Zhu Z, Ogawa H, Yagita H, Okumura K, Nakauchi H, Werb Z, Heissig B, Hattori K. Tissue type plasminogen activator regulates myeloid-cell dependent neoangiogenesis during tissue regeneration. *Blood.* 2010;115(21):4302-4312.
18. Ouyang Y, Miyata M, Hatsushika K, Ohnuma Y, Katoh R, Ogawa H, Okumura K, Masuyama K, Nakao A. TGF-beta signaling may play a role in the development of goblet cell hyperplasia in a mouse model of allergic rhinitis. *Allergol Int.* 2010;59(3):313-319.
19. Piao JH, Hasegawa M, Heissig B, Hattori K, Takeda K, Iwakura Y, Okumura K, Inohara N, Nakano H. Tumor necrosis factor receptor-associated factor (Traf)2 controls homeostasis of the colon to prevent spontaneous development of murine inflammatory bowel disease. *J Biol Chem.* 2011.
20. Potaczek DP, Kwasny-Krochin B, Nishiyama C, Okumura K, Gluszko P, Undas A. Tissue factor +5466A>G and -1208D>I genetic polymorphisms and severity of rheumatoid arthritis. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(3):423-425.

21. Potaczek DP, Nastalek M, Okumura K, Wojas-Pelc A, Undas A, Nishiyama C. An association of TLR2-16934A>T polymorphism and severity/phenotype of atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010.
22. Potaczek DP, Nastalek M, Wojas-Pelc A, Okumura K, Undas A, Nishiyama C. Naturally occurring FCER1A N222K mutation - Its ethnicity-dependent distribution and a role in atopic dermatitis. *Mol Immunol*. 2011;48(8):979-980.
23. Potaczek DP, Owczarek D, Cibor D, Nishiyama C, Okumura K, Mach T, Undas A. Tissue factor -1208D>I polymorphism is associated with D-dimer levels in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(7):1095-1096.
24. Potaczek DP, Owczarek D, Okumura K, Mach T, Undas A, Nishiyama C. An association between functional FcεRIα polymorphisms and total serum IgE levels in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 2010;45(6):766-767.
25. Potaczek DP, Piculewicz M, Mazur M, Branicka A, Nishiyama C, Okumura K, Undas A. Very rare minor homozygous GG genotype of tissue factor +5466A>G mutation in a patient with two cryptogenic cerebrovascular ischemic events. *Int J Cardiol*. 2011;147(1):e13-15.
26. Shimokawa N, Nishiyama C, Nakano N, Maeda K, Suzuki R, Hara M, Fukai T, Tokura T, Miyajima H, Nakao A, Ogawa H, Okumura K. Suppressive effects of transcription factor GATA-1 on cell type-specific gene expression in dendritic cells. *Immunogenetics*. 2010;62(7):421-429.
27. Takamura T, Harama D, Matsuoka S, Shimokawa N, Nakamura Y, Okumura K, Ogawa H, Kitamura M, Nakao A. Activation of the aryl hydrocarbon receptor pathway may ameliorate dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Immunol Cell Biol*. 2010;88(6):685-689.
28. Takeda K, Kojima Y, Uno T, Hayakawa Y, Teng MW, Yoshizawa H, Yagita H, Gejyo F, Okumura K, Smyth MJ. Combination therapy of established tumors by antibodies targeting immune activating and suppressing molecules. *J Immunol*. 2010;184(10):5493-5501.
29. Takenaka H, Ushio H, Niyonsaba F, Jayawardana ST, Hajime S, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K. Synergistic augmentation of inflammatory cytokine productions from murine mast cells by monomeric IgE and toll-like receptor ligands. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;391(1):471-476.
30. Ushio H, Ueno T, Kojima Y, Komatsu M, Tanaka S, Yamamoto A, Ichimura Y, Ezaki J, Nishida K, Komazawa-Sakon S, Niyonsaba F, Ishii T, Yanagawa T, Kominami E, Ogawa H, Okumura K, Nakano H. Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2011.
31. Vu AT, Baba T, Chen X, Le TA, Kinoshita H, Xie Y, Kamijo S, Hiramatsu K, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K, Takai T. *Staphylococcus*

aureus membrane and diacylated lipopeptide induce thymic stromal lymphopoietin in keratinocytes through the Toll-like receptor 2-Toll-like receptor 6 pathway. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(5):985-993, 993 e981-983.

32. Wang QH, Nishiyama C, Nakano N, Kanada S, Hara M, Kitamura N, Shimokawa N, Lu CL, Ogawa H, Okumura K. Opposite effects of Trichostatin A on activation of mast cells by different stimulants. *FEBS Lett.* 2010;584(11):2315-2320.

33. Yagami A, Kajiwarra N, Oboki K, Ohno T, Morita H, Sunnarborg SW, Okumura K, Ogawa H, Saito H, Nakae S. Amphiregulin is not essential for induction of contact hypersensitivity. *Allergol Int.* 2010;59(3):277-284.

34. Yamanishi Y, Kitaura J, Izawa K, Kaitani A, Komeno Y, Nakamura M, Yamazaki S, Enomoto Y, Oki T, Akiba H, Abe T, Komori T, Morikawa Y, Kiyonari H, Takai T, Okumura K,

Kitamura T. TIM1 is an endogenous ligand for LMIR5/CD300b: LMIR5 deficiency ameliorates mouse kidney ischemia/reperfusion injury. *J Exp Med.* 2010;207(7):1501-1511.

35. Bashuda, H., Shimizu, A., Uchiyama, M. and Okumura, K. Prolongation of renal allograft survival by anergic cells: advantages and limitations. *Clin Transplant*, 24: 6-10, 2010

2. 学会発表  
なし

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

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

新しい制御性 T 細胞体外増幅法による喘息治療法の開発

分担研究項目：IL-33 が喘息における気道炎症に及ぼす影響の検討

分担研究者：山口正雄 帝京大学医学部内科学呼吸器・アレルギー 准教授

研究協力者：鈴木真穂 帝京大学医学部内科学呼吸器・アレルギー リサーチレジデント

研究要旨：サイトカイン IL-33 の多彩な作用の一端が、アレルギー疾患において重要な位置づけを占める可能性が注目されている。治療への方向性を考えるときに、Th1-Th2 バランス制御だけでなく病変部レベルで免疫・炎症を制御しアレルギー疾患や喘息の発病あるいは新規治療を解明するという方向性の研究が特に最近脚光を浴びており、サイトカイン IL-33 の多彩な作用の一端が重要な位置づけを占める可能性に注目が集まる。動物喘息モデルでは Treg 導入によって抗原特異性とは独立して気道炎症、気道過敏性を抑制できるとされることから、IL-33 とマスト細胞によりポリクローナルに増幅された Treg を移入し、マウス気道炎症モデルへの効果を検討した。OVA 喘息モデルでの FR4+ Treg の移入では、eosinophils の浸潤は抑制できなかったものの、BALF 中の IL-4 レベルは抑制されることを見出した。

#### A. 背景と研究目的

気管支喘息は罹患率増加が持続しているとともに、重症・難治性を示す症例も依然多く存在しており、重症患者に要する医療および社会的コストは膨大な額に上ると試算されている。従って、喘息の病態解明と治療確立は、患者自身の QOL 改善のためだけでなく、医療経済上も重要である。喘息発病のメカニズムとして、従来より Th2 優位が重要とされており、Th2 優位を誘導する因子は喘息発病と関連が深いと考えられる。さらに、Th1-Th2 バランス制御だけでなく更に病変部レベルで免疫・炎症を制御しアレルギー疾患や喘息の発病あるいは新規治療を解明するという方向性の研究が特に最近脚光を浴びており、サイトカイン IL-33 の多彩な作用の一端が、重要な位置づけを占める可能性が注目されている。動物喘息モデルでは Treg 導入によって抗原特異性とは独立して気道炎症、気道過敏性を抑制できるとされることから、

IL-33 とマスト細胞によりポリクローナルに増幅された Treg を移入し、マウス気道炎症モデルへの効果を検討する。

#### B. 方法

マウスの OVA 感作および刺激を行い、IL-33、マスト細胞との共培養で得られた Treg を FR4 で磁気ビーズにより精製後マウスへ移入することにより、気道・肺局所の炎症への影響を調べた。

#### C. 結果

OVA 喘息モデルでの FR4+ Treg の移入では、eosinophils の浸潤は抑制できなかった。しかしながら、BALF 中の IL-4 レベルは抑制された。

#### D. 考察

OVA 喘息モデルでの FR4+ Treg の移入には部分的であるものの、何らかの抑制効果が期待で

きる。好酸球の浸潤が抑制できなかつた理由は、FR4+ Treg の精製効率が磁気ビーズによるために低いためとも考えられる。次年度以降の改善点としては、EGFP-Foxp3 マウスを用いてセルソーターで精製を行うことのほか、移入後の Treg の viability の調査(EGFP-Foxp3 を移入後、in vivo での生存率をカウント)、移入するタイミング(吸入直前、吸入数日前など)の検討が必要である。

## E. 結論

マウス OVA 喘息モデルにおいて、IL-33 とマスト細胞との共培養によって増幅された Treg の移入により、部分的ではあるもののその効果が認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Sano Y, Yamada H, Ogawa C, Yamaguchi M. Some asthmatics show elevation of the peripheral venous oxygen pressure (PvO<sub>2</sub>). *Allergol Int.* 2011;60(1):109-110.
2. Toda T, Yamaguchi M, Nakase Y, Sugimoto N, Suzukawa M, Nagase H, Ohta K. A case of anaphylactic reaction following matsutake mushroom ingestion: demonstration of histamine release reaction of basophils. *Allergol Int.* 2010;59(4):417-419.
3. Suzukawa M, Nagase H, Ogahara I, Han K, Tashimo H, Shibui A, Koketsu R, Nakae S, Yamaguchi M, Ohta K. Leptin enhances survival and induces migration, degranulation and cytokine synthesis of human basophils. *J Immunol*, in press.
4. Han K, Suzukawa M, Yamaguchi M, Sugimoto N, Nakase Y, Toda T, Nagase H, Ohta K. The in vitro effects of advanced glycation endproducts (AGEs) on basophil functions. *Int Arch Allergy Immunol*, in press.
5. 山口正雄。薬剤過敏症への理解と対応。抗菌薬、消毒薬過敏の機序と対応。内科。105(4):603-605,2010. 南江堂。
6. 山口正雄。薬物アレルギー。月刊薬事。52(5):685-689,2010. じほう。
7. 山口正雄。一般薬、抗菌薬の薬物アレルギー検査法。p32-35。監修 秋山一男。アレルギー専門医のためのアレルギー検査と免疫療法の実践。協和企画。2010年7月。
8. 山口正雄。喘息の危険因子。p15-20。気管支喘息 こう診る・こう考える。日本医事新報社。2010年7月。
9. 山口正雄。温故知新。巻頭言。アレルギー・免疫。医薬ジャーナル社。17(9):1471,2010。
10. 山口正雄。新しい治療薬とその位置づけ—抗 IgE 抗体。Medico。41(9):295-298,2010. 協和企画。
11. 山口正雄。全身強皮症。呼吸。レスピレーションリサーチファンデーション。29(8):829-833,2010
12. 山口正雄。アレルギー検査。p314-318、細胞性免疫検査。p319-322。臨床検査値判読ハンドブック—検査値を正しく、深く診るために。南江堂。2010年9月。

13. 山口正雄。好塩基球の反応性。今月のことば。アレルギーの臨床。30(14):1233,2010. 北隆館。

14. 山口正雄。抗IgE療法を含めた抗体療法。臨床免疫・アレルギー科。55(1):61-66,2011. 科学評論社。

15. 山口正雄。気管支ぜんそく。からだの科学。268:75-79,2010. 科学評論社。

16. 山口正雄。難治性喘息治療における抗IgE抗体療法の薬理作用をみる。p142-147。編集 大田 健。～抗体治療時代の～気管支喘息治療の新たなストラテジー。先端医学社。2011年2月。

## 2. 学会発表

戸田貴子、原 麻恵、小島康弘、竹澤智湖、山村浩一、鈴木真穂、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、中野純一、長瀬洋之、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。マツタケによりアナフィラキシー症状を呈し、prick to prick test と好塩基球脱顆粒試験で陽性を示した1例。第22回日本アレルギー学会春季臨床大会。平成22年5月8～9日。

山口正雄。シンポジウム3。気管支喘息の病態の新知見。新規生物学的治療の最前線。第50回日本呼吸器学会学術講演会。平成22年4月23～25日。

長瀬洋之、小島康弘、戸田貴子、原 麻恵、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。帝京大学内科における非小細胞肺癌症例の治療成績。第107回日本内科学

会総会・講演会。平成22年4月9～11日。

戸田貴子、長瀬洋之、原 麻恵、鈴木真穂、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。呼気一酸化窒素濃度(FeNO)の疾患特異性の検証。第20回国際喘息学会日本・北アジア部会。平成22年7月2～3日。

戸田貴子、山口正雄、中瀬裕子、杉本直也、原麻恵、小島康弘、吉原久直、竹澤智湖、山村浩一、鈴木真穂、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、中野純一、長瀬洋之、鈴木直仁、大田 健。マツタケによりアナフィラキシー症状を呈し、prick-to-prick test と好塩基球ヒスタミン遊離試験で陽性が確認された1例。第41回日本職業・環境アレルギー学会総会・学術大会。平成22年7月16～17日。

鈴木真穂、Han Kaiyu、山口正雄、杉本直也、中瀬裕子、戸田貴子、原 麻恵、小島康弘、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、鈴木直仁、大田 健。ミニワークショップ。Advanced glycation endproducts(AGEs)がヒト好塩基球に及ぼす作用の解析。第60回日本アレルギー学会秋季学術大会。平成22年11月25～27日。

長瀬洋之、戸田貴子、杉本直也、中瀬裕子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。ミニワークショップ。JGL2009、GINA、EPR3喘息コントロールテスト(ACT)における喘息コントロール評価の比較。第60回日本アレルギー学会秋季学術大会。平成22年11月25～27日。

戸田貴子、長瀬洋之、神山麻恵、中瀬裕子、杉

本直也、鈴木真穂、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、中野純一、山口正雄、鈴木直仁、大田 健。非喘息性呼吸器疾患における呼気一酸化窒素濃度 (FeNO)測定の意義。第60回日本アレルギー学会秋季学術大会。平成22年11月25~27日。

山口正雄、佐渡賢太、中瀬裕子、杉本直也、戸田貴子、原 麻恵、小島康弘、竹澤智湖、吉原久直、鈴木真穂、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、長瀬洋之、鈴木直仁、大田 健。手術開始時にアナフィラキシーショックを発症し、即時型皮膚反応検査を施行した一例。第60回日本アレルギー学会秋季学術大会。平成22年11月25~27日。

Yamaguchi M, Koketsu R, Suzukawa M, Kawakami A, Komiya A, Iikura M, Nagase H, Matsumoto K, Saito H, Ra C, Yamamoto K, Hirai K, Ohta K. Priming of human basophils by low levels of anti-FcεRI α-chain mAb. CIA Symposium (Collegium International Allergologicum 28th Symposium) April 25-30, 2010.

Koketsu R, Suzukawa M, Kawakami A, Komiya A, Iikura M, Nagase H, Matsumoto K, Saito H, Ra C, Hirai K, Yamamoto K, Ohta K, Yamaguchi M. Priming of human basophils by low levels of anti-FcεRIα-chain mAb. 14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010 Kobe.

Nakase Y, Sugimoto N, Toda T, Kuramochi M, Tashimo H, Nagase H, Yamamoto A, Takeshita K, Yamaguchi M, Ohta K. A case of toxocariasis who presented abnormal tubular structures in lung

fields. Joint Meeting combining The3rd meeting of the Japanese Society of Pulmonary Functional Imaging and 5th International Workshop for Pulmonary Functional Imaging. January 28-30, 2011 Awaji Island, Japan.

Toda T, Yamaguchi M, Nakase Y, Sugimoto N, Suzukawa M, Kamiyama A, Yoshihara H, Kuramochi M, Tashimo H, Arai H, Nagase H, Ohta K. Matsutake Mushroom-induced anaphylactic reaction: The patient's nonreleasing basophils showed antigen-induced histamine release after 3-day treatment with IL-3. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) annual meeting-March 12 - 18, 2011.

Suzukawa M, Yamaguchi M, Han K, Toda T, Nagase H, Ohta K. The role of advanced glycation endproducts (AGEs) on basophil functions. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) annual meeting-March 12 - 18, 2011.

Nagase H, Toda T, Kamiyama A, Nakase Y, Sugimoto N, Yoshihara H, Kuramochi M, Tashimo H, Arai H, Yamaguchi M, Suzuki N, Ohta K. Usefulness of measuring the level of fractional exhaled nitric oxide (FeNO) in various respiratory diseases. American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology (AAAAI) annual meeting-March 12 - 18, 2011.

#### 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

#### IV. 研究成果の刊行に関する一覧表