

201023036A

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

アレルギー疾患感受性遺伝子である
ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子の発現抑制作用を
持つ天然物を用いる治療戦略に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 福井 裕行

平成 23 (2011) 年 7 月

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

アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子の
発現抑制作用を持つ天然物を用いる治療戦略に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 福井 裕行

平成 23 (2011) 年 7 月

目 次

I. 総括研究報告	
アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミンH ₁ 受容体遺伝子の発現抑制作用を持つ天然物を用いる治療戦略に関する研究	5
福井裕行	
II. 分担研究報告	
1. アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミンH ₁ 受容体遺伝子の発現亢進分子機構解明、天然物由来ヒスタミンH ₁ 受容体遺伝子発現抑制薬の同定、及び、その分子薬理機構解明に関する研究	23
福井裕行、武田憲昭、荻野 敏、水口博之、柏田良樹、根本尚夫	
2. マウス喘息モデルにおける苦参抽出物の作用に関する研究に関する研究	29
斎藤博久、大保木啓介、梶原直樹	
3. 苦参熱抽出物の細菌感染炎症への作用に関する研究に関する研究	34
中山勝文、小笠原康悦、川野光子	
4. 天然物による細胞分化抑制を介した治療戦略に関する研究に関する研究	37
有信洋二郎、出原賢治、白石裕士	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	45

I. 総括研究報告

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）

アレルギー疾患感受性遺伝子であるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子の
発現抑制作用を持つ天然物を用いる治療戦略

研究代表者：福井 裕行	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	教授
研究分担者：武田 憲昭	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	教授
研究分担者：水口 博之	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	准教授
研究分担者：柏田 良樹	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	准教授
研究分担者：根本 尚夫	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部	准教授
研究分担者：荻野 敏	大阪大学大学院医学系研究科	教授
研究分担者：斎藤 博久	国立成育医療研究センター研究所	副研究所長
研究分担者：中山 勝文	東北大学・加齢医学研究所 生体防御学	助教
研究分担者：有信 洋二郎	九州大学病院 遺伝子・細胞療法部	助教
研究協力者：大保木啓介	国立成育医療研究センター研究所 免疫アレルギー研究部	研究員
研究協力者：梶原 直樹	順天堂大学 アトピー疾患研究センター	研究員
研究協力者：小笠原 康悦	東北大学・加齢医学研究所 生体防御学	教授
研究協力者：川野 光子	東北大学・加齢医学研究所 生体防御学	博士研究員
研究協力者：出原 賢治	佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野	教授
研究協力者：白石 裕士	佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野	助教

研究要旨： ヒスタミン H₁ 受容体 (H₁R) 刺激は PKC δ 活性化と遺伝子発現亢進を介する受容体アップレギュレーションを引き起こした。花粉症の臨床研究において、症状スコアと鼻粘膜 H₁R mRNA レベルの相関性を証明した。抗アレルギー性漢薬、苦参の熱水抽出物 (苦参) は鼻過敏症モデルラットの症状改善作用、鼻粘膜 H₁R mRNA、及び、IL-4 mRNA の上昇を抑制した。苦参に含有される H₁R 遺伝子/IL-4 遺伝子発現亢進抑制物質が(-)マキアイン ((-)MKN) であることを同定した。有機合成(-)MKN は PKC δ のリン酸化、及び、H₁R mRNA と IL-4 mRNA の上昇を抑制した。苦参の OVA 感作マウス喘息モデルへの腹腔内投与により、気道抵抗値、BALF 中への好酸球浸潤の減少、肺組織、BALF IL-4 レベル低下が見いだされた。苦参は LPS 刺激したマウス骨髄由来マクロファージからの IL-6 および TNF- α 産生を濃度依存的に抑制した。

A. 研究目的

アレルギー疾患の更なる症状改善のために、疾患感受性遺伝子発現亢進の抑制による治療戦略が高く期待される。多くの G タンパク共役型受容体 (GPCR) の刺激が受容体発現レベルを低下させるのに反し、ヒスタミン H₁ 受容体の刺激が遺伝子発現亢進を介した受容体発現レベルの増加を引き起こすことを見いだした。ヒスタミン H₁ 受容体シグナルは H₁ 受容体の発現量に依存することから、H₁ 受容体遺伝子がアレルギー疾患感受性遺伝子として働き、疾患症状の悪化に関与しているのではないかと考えた。本研究において、アレルギー疾患感受性遺伝子としての H₁ 受容体遺伝子についての臨床研究、及び、H₁ 受容体遺伝子発現亢進の分子機構について明らかにする。また、toluene-2, 4-diisocyanate 曝露による鼻過敏症モデルラットにおいて苦参が鼻粘膜 H₁R の発現、ヒスチジン脱炭酸酵素活性や IL-4、IL-5 mRNA の発現を抑制し、くしゃみなどの鼻アレルギー症状を軽減することが見出された (J Pharmacol Sci. 2009; 109 (4) : 606-17.)。そこで、H₁ 受容体遺伝子発現亢進を抑制する苦参が含有する有効成分の同定、マウス喘息モデルにおける苦参の症状改善作用、細菌感染性炎症に対する苦参の抑制作用、喘息モデルマウスのアレルギー性炎症に対する苦参の効果、及び、骨髄球系細胞の分化に与える苦参の影響に関して検討した。

B. 研究方法

1. 臨床研究

花粉症患者ボランティアの抗ヒスタミン薬による初期療法群 8 名、非初期療法群 17 名について、くしゃみと鼻漏を鼻アレルギーガイドライン 2009 の重症度分類に従ってスコア化した。また、ボランティア鼻粘膜を採取し、ヒスタミン H₁ 受容体 mRNA を測定した。組織サンプルの mRNA を逆転写酵素 (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems)) により cDNA に変換し、Fast Start Universal Probe Master (ROX) (Roche) を含む試薬により、Sequence Detector (GeneAmp 7300 Sequence Detection System, Applied Biosystems) を用いて real-time PCR 反応による mRNA 測定を行った。

2. 苦参含有有効成分の同定

培養細胞 (RBL 2H3 細胞) の IgE 受容体刺激による IL-4 mRNA 上昇に対する抑制活性を指標に有効成分の精製・単離、及び、化学構造の同定を行った。苦参 (*Sophorae Radix*) 100°C 抽出液を異なる pH で酢酸エチルによる抽出を行い、IL-4 mRNA の増加に対する抑制活性画分を Silica gel 60N (関東化学) のオープンカラムを用いて精製を行い、更に、Mightysil RP18 GP (関東化学) による HPLC により活性成分を単離した。そして、1 次元 ¹H-NMR、¹³C-NMR 及び 2 次元 ¹HH-COSY、DEPT、HMBC、HSQC (日本ブルカー; ARX-400) と旋光度測定により構造決定を行った。

3. 苦参含有有効成分の薬理機構

ヒスタミンで刺激した培養細胞 (HeLa

細胞)の溶解サンプルを SDS-PAGE で展開し、Phospho-PKC δ (Tyr311) Antibody (cell Signaling) による Western-blot 法により検出したリン酸化 PKC δ に対する苦参含有有効成分の抑制を検討した。また、ヒスタミン刺激 HeLa 細胞の H1R mRNA 上昇に対する苦参含有有効成分の抑制を検討した。

4. 急性喘息モデルマウスに対する苦参の症状改善作用

C57BL/6J 雄マウスに対して卵白アルブミン (OVA 50 μ g : 水酸化アルミニウムゲル (1:1)) 溶液を 0, 8 日目に腹腔内投与により感作し、16, 18, 20 日目に 200 μ g の OVA の経鼻吸入により急性喘息モデルを作成した。苦参抽出物は 0 から 20 日目まで 1 日おきに 300 mg/kg を腹腔内投与した。21 日目に気道過敏性試験 (Buxco 社侵襲的気道抵抗測定装置) を行い、血清、気管支肺胞洗浄液 (BALF)、肺組織をサンプリングした。喘息モデルの指標として、血清中の IgG1 及び IgE レベル、BALF 中の炎症細胞数 (Sysmex, XT1800iv) とサイトカイン (IFN- γ 、IL-4、IL-17、IL-10) 濃度 (ELISA)、肺の病理組織学的変化 (HE 染色)、肺組織中のサイトカイン (IFN- γ 、IL-4、IL-17、IL-10) 及びヒスタミン H1 受容体の mRNA 発現量 (Real-time PCR) を評価した。

5. 苦参の LPS 刺激マウス骨髄由来マクロファージの炎症性サイトカイン産生抑制活性、及び、苦参の黄色ブドウ球菌感染性皮膚炎モデルマウスの抗炎症作用

in vitro および *in vivo* 実験により苦参熱

水抽出物の抗炎症作用を評価した。まず、マウス骨髄由来マクロファージを LPS (10 ng/ml) で刺激し、12 時間後の炎症性サイトカインを ELISA 法により測定した。このとき、マウス骨髄由来マクロファージを苦参熱水抽出物 (0.3 mg/ml, 1 mg/ml あるいは 3 mg/ml) で 1 時間前処理することによりこの天然物の効果を評価した。次いで、C57BL/6 マウスに黄色ブドウ球菌 RN4220 株 (1×10^8 cfu/mouse) を皮下感染させ、感染後 10 日間の皮膚炎症領域を経時的に測定した。この皮膚炎モデルマウスに予め苦参熱水抽出物 (6 mg/mouse) あるいは PBS を隔日に 1 週間腹腔内投与することにより、苦参の抗炎症作用を評価した。

6. 苦参の喘息モデルマウスの症状改善と血球に対する影響

C57BL/6 mouse を用い、OVA 50 μ g+ Alum 1mg 腹腔内投与による感作 (Day0, 8)、1% OVA aerosol 吸入による曝露 (Day16, 18, 20) により喘息誘導を行った。Day0 から Day20 までの間の隔日に、苦参熱抽出物 (300mg/kg, 6mg/mouse) を腹腔内投与した。Day21 に、気管支肺胞洗浄液中の好酸球数を評価した。また、骨髄球系細胞の血液分化に与える影響として、骨髄中の骨髄球系共通前駆細胞 (CMP)、顆粒球・単球系前駆細胞 (GMP)、好酸球前駆細胞 (EoP) の数、腹腔内の肥満細胞の数、及び末梢血の白血球分画を評価した。

C. 研究結果

1. アレルギー疾患感受性遺伝子としてのヒスタミン H1 受容体遺伝子の臨床研究

花粉症患者ボランティアの鼻過敏症症状スコアと鼻粘膜ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子 mRNA の測定を行った。症状スコアと鼻粘膜ヒスタミン H₁ 受容体 mRNA レベルには相関性が証明された (相関係数=0.51)。抗ヒスタミン薬による初期療法を行った患者において、くしゃみと鼻水スコア、及び、鼻粘膜ヒスタミン H₁ 受容体 mRNA レベル共に、非初期療法患者群に比べて有意に低かった。

2. 苦参に含まれるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現抑制物質の精製・単離、及び、化学構造決定

苦参 (*Sophorae Radix*) 100°C抽出液を異なる pH で酢酸エチルによる抽出を行い、IL-4 mRNA の増加に対する抑制活性画分を Silica gel 60N (関東化学) のオープンカラムを用いて精製を行い、更に、Mightysil RP18 GP (関東化学) による HPLC により活性成分を単離した。そして、1 次元 ¹H-NMR、¹³C-NMR 及び 2 次元 HH-COSY、DEPT、HMBC、HSQC (日本ブルカー; ARX-400) と旋光度測定により構造 ((-)マーキアイン) を決定した。(-)マーキアインはヒスタミン H₁ 受容体 mRNA の増加に対して抑制活性を示した。

3. (±)マーキアインの有機合成

2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenol をセサモールと N-Bromosuccinimide の反応により合成した。次いで、2-Bromo-4,5-methylenedioxyphenol と 7-benzyloxy-2H-1-benzopyran を、tricyclohexylphosphine、及び、PdCl₂(PhCN)₂ と反応させ、(±)マーキア

インを得た。反応生成物は Silica gel 60N により精製し、FT-NMR AL-400 (日本電子) により構造を同定した。

4. ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進機構とマーキアインの薬理学

HeLa 細胞の H₁ 受容体刺激、及び、PKC 活性化ホルボールエステル (PMA) 刺激による H₁ 受容体 mRNA 増加は非特異的 PKC 阻害薬、及び、PKC δ 特異的阻害薬 (rottlerin) により抑制され、Ca⁺⁺依存性 PKC 阻害薬 (Go6976) では阻害されなかった。また、H₁ 受容体刺激、及び、PMA 刺激により PKC δ のリン酸化が引き起こされた。(-)マーキアイン、及び、(±)マーキアインは H₁ 受容体 mRNA 増加、及び、PKC δ のリン酸化を抑制した。(-)マーキアインは(±)マーキアインの半分の濃度で同等の作用を示した。

5. 急性喘息モデルマウスに対する苦参の症状改善作用

感作したマウスに OVA を吸入させることによって気道抵抗値の上昇、BALF 中への好酸球を中心とする炎症細胞の増加が認められた。血清中の総 IgE 及び OVA 特異的 IgE レベルは OVA 吸入によって増加し IgG1 レベルは変化しなかった。さらに、肺組織の IL-4 及びヒスタミン H₁ 受容体の発現が OVA 吸入によって増加し、BALF 中の IL-4 濃度も増加した。一方、肺組織の IFN- γ 、IL-17、IL-10 の mRNA、および BALF 中のそれらサイトカインレベルの増加は観察されなかった。

苦参抽出物の腹腔内投与によって、気道抵抗値、BALF 中への好酸球浸潤共に有意

に減少した。また、肺組織、BALF における IL-4 量は苦参抽出物の腹腔内投与によって有意に抑制された。一方、肺組織、BALF 中の IFN- γ 、IL-17、IL-10 レベルに変化は認められなかった。総 IgE 及び OVA 特異的 IgE の産生は苦参抽出物の投与によって僅かに抑制傾向が見られたものの、PBS 投与（対照）との間に統計的有意差はなかった。苦参抽出物は肺組織におけるヒスタミン H1 受容体 mRNA 量には影響を及ぼさなかった。

6. 苦参の LPS 刺激マウス骨髄由来マクロファージの炎症性サイトカイン産生抑制活性、及び、苦参の黄色ブドウ球菌感染性皮膚炎モデルマウスの抗炎症作用

C57BL/6 マウス骨髄細胞を M-CSF (50 ng/ml) で 7 日間培養することにより分化させたマクロファージを LPS (10 ng/ml) で 12 時間刺激すると、IL-6 および TNF- α といった炎症性サイトカインの産生が認められたが、このとき、0.3 あるいは 1 mg/ml の苦参熱抽出物を LPS 刺激 1 時間前にマクロファージに添加することにより、IL-6 および TNF- α 共に濃度依存的な抑制効果が認められ、1 mg/ml 濃度では両サイトカイン産生がほぼ完全に抑制された。

C57BL/6 マウス背部皮下に黄色ブドウ球菌 (1×10^8 cfu/mouse) を感染させると、感染 2 日後から徐々に皮膚炎が認められ、感染 5~7 日後にその炎症領域が最大になった。この皮膚炎モデルマウスにおいて PBS 投与群と苦参熱水抽出物投与群を比較した結果、PBS 投与群では感染 2 日後に炎症が認められる個体が多いのに対して、苦参熱水抽出物投与群では 4 日以降に発症する個

体が多かった。また苦参熱水抽出物投与により炎症が抑えられる傾向が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。

7. 苦参の喘息モデルマウスの症状改善と血球に対する影響

苦参の腹腔内投与により、喘息モデルマウスの気管支肺胞洗浄液中への好酸球浸潤は著明に抑制された。一方、骨髄中の CMP、GMP、EoP 数、腹腔内肥満細胞数、末梢血の白血球分画には影響を与えなかった。

D. 考察

疾患感受性遺伝子の発現亢進抑制薬は新規アレルギー疾患治療薬として期待される。ヒスタミン H₁ 受容体刺激は遺伝子発現亢進を介して H₁ 受容体発現量を増加させること、及び、花粉症患者の鼻過敏症症状スコアと鼻粘膜 H₁ 受容体 mRNA レベルが相関することからヒスタミン H₁ 受容体遺伝子はアレルギー疾患感受性遺伝子であると考えられる。

抗アレルギー作用の伝承を持つ天然物は多数存在するが、科学的検証がなされていない。抗アレルギー性漢薬の苦参の抽出液は H₁ 受容体 mRNA の増加に対する強力な抑制作用を持ち、有効成分が (-) マーキアイン (図 1) であることが明らかになった。(-) マーキアインの分子薬理機構は PKC δ の活性化機構の抑制であると考えられる。H₁ 受容体遺伝子の発現亢進は PKC δ シグナルにより引き起こされることから、PKC δ はアレルギー疾患の創薬ターゲットの可能性が高い。

ヒスタミン H₁ 受容体刺激は PKC δ の活

性化を引き起こすことから、抗ヒスタミン薬は PKC δ 抑制薬としての作用を持つ。(一)マーキアインの薬理作用は抗ヒスタミン薬と重複することが考えられる。しかし、PKC δ の活性化はH₁受容体刺激以外に種々のアレルギーメディエーター受容体刺激でも引き起こされると考えられる。抗ヒスタミン薬では抑制できない H₁ 受容体以外のシグナルに対して、(一)マーキアインの有効性が期待できる。

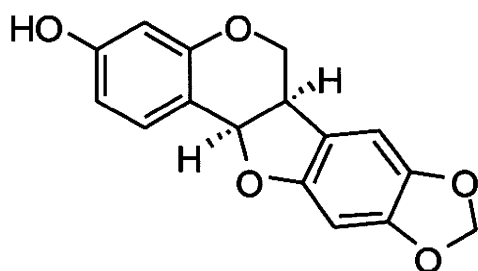


図 1. (一) マーキアインの化学構造

苦参抽出物が肺組織における IL-4 の産生を抑制し、気道過敏性、気道炎症を抑制するという本年度の研究成果は、福井らが報告したアレルギー性鼻炎ラットモデルの結果と一致する。IFN- γ 、IL-17、IL-10 の発現や産生が苦参抽出物の投与によって変化しなかったことから、苦参抽出物はヘルパー T 細胞のバランスの偏向に影響を及ぼすのではなく、2 型ヘルパー T 細胞の分化や機能を選択的に抑制すると考えられる。次年度以降、苦参抽出物の経口投与あるいは主要な苦参有効成分の投与によって急性喘息の病態が軽減されるかどうか、阿波晩茶、緑茶（べにふうき）、つくしなど天然物が急性喘息の病態にどのような影響を及ぼすのかについて検討する予定である。

苦参熱水抽出物が C57BL/6 マウス骨髄

マクロファージの TLR 刺激による IL-6 および TNF- α 産生を抑制することが明らかとなった。この抑制作用は、本研究班代表者（福井）らによって見出されたアレルギー性鼻炎モデルラットの H₁R、IL-4、IL-5 mRNA の発現抑制作用と同じ分子メカニズムを介するのか、あるいは全く異なるのかは不明である。次年度以降、この抑制機序を解明する予定である。さらに主要な苦参有効成分、および阿波晩茶、緑茶（べにふうき）、つくしなど天然物についても今年度と同様に細菌感染性炎症にどのような影響を及ぼすかについて検討する予定である。

苦参の投与にて、喘息モデルマウスでの肺の好酸球性炎症は抑制されることが示唆された。苦参投与は GMP、EoP、末梢血好酸球への分化に影響を与えないことから、苦参は、炎症局所への EoP・成熟好酸球の遊走や、局所での EoP・成熟好酸球の分化・生存・増殖に影響を与えている可能背が考えられた。今後苦参が、好酸球性炎症のどの段階を抑制しているのかを、検討していく予定である。

E. 結論

花粉症の臨床研究において、鼻過敏症症状スコアとヒスタミン H₁ 受容体 mRNA レベルと遺伝子の相関性が証明された。H₁ 受容体の反復刺激により H₁ 受容体発現量が増加し、鼻過敏症症状の悪化に関係することが考えられる。「苦参」抽出液にヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進に対する抑制作用が見いだされ、主要活性成分が(一)マーキアインであることが判明した。(一)マーキアインは PKC δ の活性化機構を標的とし、

疾患感受性遺伝子発現を抑制する新規アレルギー疾患治療薬シーズとして利用可能である。

苦参抽出物は、マウス喘息モデルにおいて、IL-4 や IgE の産生を抑制し、急性喘息の病態を軽減することが明らかになった。

苦参熱抽出物はマウスマクロファージからの炎症性サイトカイン産生を抑制し、細菌感染性炎症に抑制効果を示す可能性があることが明らかとなった。

苦参は、喘息モデルマウスの好酸球性炎症を抑制し、喘息病態においても有効であると考えられた。また、皮膚炎モデルマウスとしてのダニ抽出物誘導性皮膚炎の作成に成功し、今後、皮膚炎モデルマウスにおける苦参の効果の解析が可能となった。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

論文

- 1) Hishinuma S, Komazaki H, Fukui H, Shoji M. Ubiquitin/proteasome-dependent down-regulation following clathrin-mediated internalization of histamine H₁-receptors in Chinese hamster ovary cells. *J. Neurochem* **113** (4), 990-1001, 2010.
- 2) Horio S, Fujimoto K, Mizuguchi H, Fukui H. Interleukin-4 up-regulates histamine H₁ receptors by activation of

H₁ receptor gene transcription. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* **381** (4), 305-313, 2010.

3) Venkatesh P, Mukherjee PK, Mukherjee D, Bandyopadhyay A, Fukui H, Mizuguchi H. Potential of *Baliospermum montanum* against compound 48/80-induced systemic anaphylaxis. *Pharmaceut Biol* **48** (11), 1213-1217, 2010.

4) Venkatesh P, Mukherjee PK, Kumara S, Bandyopadhyay A, Fukui H, Mizuguchi H, Islamc NA. Anti-allergic activity of standardized extract of *Albizia lebbek* with reference to catechin as a phytomarker. *Immunopharmacology and Immunotoxicol* **32** (2), 272-276, 2010.

5) Mizuguchi H, Kitamura Y, Kondo Y, Kuroda W, Yoshida H, Miyamoto Y, Hattori M, Fukui H, Takeda N. Pre-seasonal prophylactic treatment with antihistamines suppresses nasal symptoms and expression of histamine H₁ receptor mRNA in the nasal mucosa of patients with pollinosis. *Methods Findings Exp Clin Pharmacol* **32** (10), 745-748, 2010.

6) Dev S, Mizuguchi H, Das AK, Baba Y, Fukui H. Proteomic Microarray analysis reveals suppression of histamine signaling by Kujin alleviates allergic symptoms by inhibition of NF- κ B activation through down-regulation of FAT10 mRNA expression. *Int Immunopharmacol*, in press.

7) Oboki K, Nakae S, Matsumoto K, Saito

- H. IL-33 and Airway Inflammation. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2011;3(2):81-88.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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]
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) 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.
- 24) 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.
- 25) 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.
- 26) 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.
- 27) 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.
- 28) 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.
- 29) 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.
- 30) 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.
- 31) Nishiya T, Matsumoto K, Maekawa S, Kajita E, Horinouchi T, Fujimuro M, Ogasawara K, Uehara T, Miwa S. Regulation of Inducible Nitric-oxide Synthase by the SPRY Domain- and SOCS Box-containing Proteins. *J Biol Chem.* 2011; 286(11):9009-9019
- 32) Honda T, Nakajima S, Egawa G, Ogasawara K, Malissen B, Miyachi Y, Kabashima K. Compensatory role of Langerhans cells and langerin-positive dermal dendritic cells in the sensitization phase of murine contact hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125(5):1154-1156.
- 33) Mori T, Ishida K, Mukumoto S, Yamada Y, Imokawa G, Kabashima K, Kobayashi M, Bito T, Nakamura M, Ogasawara K, Tokura Y. Comparison of skin barrier function and sensory nerve electric current perception threshold between IgE-high extrinsic and IgE-normal intrinsic types of atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2010; 162(1):83-90
- 34) Champsaur M, Beilke JN, Ogasawara K, Koszinowski UH, Jonjic S, Lanier LL. Intact NKG2D-independent function of NK cells chronically stimulated with the NKG2D ligand Rae-1. *J Immunol.* 2010;185(1):157-165
- 35) Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Mitoma H, Niino H, Arinobu Y, Inoue Y, To K, Miyamoto T, Iwasaki H, Teshima T, Harada M, Akashi K. Analysis of immune reconstitution after autologous CD34+ stem/progenitor cell transplantation for systemic sclerosis: predominant reconstitution of Th1 CD4+ T cells. *Rheumatology.* 50: 944-952, 2011
- 36) Katsuta H, Akashi T, Katsuta R, Nagaya M, Kim D, Arinobu Y, Hara M,

- Bonner-Weir S, Sharma AJ, Akashi K, Weir GC. Single pancreatic beta cells co-express multiple islet hormone genes in mice. *Diabetologia*. 53: 128-38, 2010
- 37) Yoshida S, Ishikawa K, Asato R, Sassa Y, Yoshida A, Yoshikawa H, Narukawa K, Obika S, Ono J, Ohta S, Izuhara K, Kono T, Ishibashi T. Increased expression of Periostin in vitreous and fibrovascular membranes obtained from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. in press
- 38) Okamoto M, Hoshino T, Kitasato Y, Sakazaki Y, Kawayama T, Fujimoto K, Ohshima K, Shiraishi H, Uchida M, Ono J, Ohta S, Kato S, Izuhara K, Aizawa H. Periostin, a matrix protein, is a novel biomarker for idiopathic interstitial pneumonias. *Eur Respir J*. in press
- 39) Fujimoto K, Kawaguchi T, Nakashima O, Ono J, Ohta S, Kawaguchi A, Tonan T, Ohshima K, Yano H, Hayabuchi N, Izuhara K, Sata M. Periostin, a matrix protein, has potential as a novel serodiagnostic marker for cholangio-carcinoma. *Oncol Rep*. 25: 1211-1216, 2011
- 40) Matsushita H, Ohta S, Shiraishi H, Suzuki S, Arima K, Toda S, Tanaka H, Nagai H, Kimoto M, Inokuchi A, Izuhara K. Endotoxin tolerance attenuates airway allergic inflammation in model mouse by suppression of the T-cell stimulatory effect of dendritic cells. *Int Immunol*. 22: 739-747, 2010
- 41) Suzuki K, Inokuchi A, Miyazaki J, Kuratomi Y, Izuhara K. Relationship between squamous cell antigen and the clinical severity of allergic rhinitis caused by *Dermatophagoides farinae* and Japanese cedar pollen. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 119: 22-26, 2010
- 42) Shiraishi H, Okamoto H, Hara H, Yoshida H. Alternative cell death of Apaf1-deficient neural progenitor cells induced by withdrawal of EGF or insulin. *Biochim Biophys Acta*. 1800:405-415, 2010
- 43) Izuhara K, Kanaji S, Nakao I, Arima K, Nakajima A, Matsushita H, Ohta S, Tanaka H, Nagai H. Identification of pendrin as a common mediator for mucus production in bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease (Environmental and genetic factors in allergy and clinical immunology) *Pacini Editore Medicina*, 159-162, 2010
- 書籍
- 1) 水口博之、福井裕行. 小青竜湯によるアレルギー性鼻炎モデルラットの症状抑制とヒスタミンシグナル遺伝子発現抑制作用. *漢方と最新治療* 19(2), 151-157, 2010.
- 2) 福井裕行. ヒスタミンH₁受容体遺伝子発現機構の病理学的意義. *日本薬理学雑誌* 135(4), 153-157, 2010.
- 3) 秀道広、川内秀之、佐藤伸一、福井裕行. 抗ヒスタミン薬の多様な作用と臨床的意義, *皮膚アレルギーフロンティア* 8 (3), 72 (218)-77 (223), 2010.
- 4) 水口博之、北村嘉章、近藤勇人、黒田若

- 奈、吉田陽香、宮本裕子、服部将史、武田憲昭、福井裕行. ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現機構のアレルギー疾患における病理学的意義. *YAKUGAKU ZASSHI* 131 (2), 171-178, 2011.
- 5) Fukui H, Mizuguchi H. Chapter 12, Histamine H₁ Receptor Gene Expression Mechanism as a Novel Therapeutic Target of Allergy. In, Biomedical aspects of histamine; new perspectives. Eds., Shahid M, et al.. Springer (Amsterdam), in press.
- 6) 中山勝文: Tim ファミリー分子を介したアポトーシス細胞貪食機構 生物と化学 Vol 48, No 12, 806-808, 2010
- 7) 垣生園子、中山勝文: 免疫学研究者のための工具箱、Janeway's 免疫生物学 第7版 翻訳 2010年4月15日発行
- 8) 有信洋二郎、赤司浩一. 好塩基球と肥満細胞の発達. *炎症と免疫*. 18: 3-8, 2010
- 9) 出原賢治. 喘息基礎研究最前線 Overview (2010年における気管支喘息のすべて) Life Science Publishing. 167-175, 2011
- 10) 増岡美穂、出原賢治. アトピー性皮膚炎「アトピー性皮膚炎のモデルマウス」. *アレルギー・免疫* 18: 332-339, 2011
- 11) 出原賢治、白石裕士、鈴木章一、太田昭一郎. インターロイキン 13. (関節リウマチ 第2版) 日本臨床社 68: 141-144, 2010
- 12) 出原賢治、太田昭一郎、白石裕士、鈴木章一. アレルギー疾患の生化学的検査方法. *臨床と研究*. 87: 221-225, 2010
- 13) 白石裕士、出原賢治. Periostin (ペリオスチン) と肺疾患. *呼吸* 29: 479-484, 2010
- 14) 出原賢治. IL-4 と IL-13 のレセプターとの結合様式. *臨床免疫・アレルギー科* 54: 613-618, 2010
2. 学会発表
- 1) 福井裕行、水口博之、黒田若奈、北村嘉章、武田憲昭. 疾患感受性遺伝子発現亢進機構研究と新規治療薬開発のためのアレルギー性鼻炎モデルラット. 第22回日本アレルギー学会春季臨床大会 (京都市、2010年5月)
- 2) 寺尾拓馬、水口博之、池田光広、藤本勝巳、福井裕行. ヒトヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現調節メカニズムの解明. 第117回日本薬理学会近畿部会 (徳島市、2010年7月)
- 3) 大岸弘敬、水口博之、北村嘉章、近藤勇人、黒田若奈、吉田陽香、宮本裕子、服部将史、武田憲昭、福井裕行. 花粉症患者鼻粘膜におけるヒスタミン H₁ 受容体シグナルに依存したアレルギー疾患関連遺伝子の同定. 第117回日本薬理学会近畿部会 (徳島市、2010年7月)
- 4) 金山知代、水口博之、加藤周平、成相祐希、柏田良樹、川添和義、根本尚夫、高石喜久、福井裕行. 和漢薬苦参からのアレルギー性疾患感受性遺伝子発現抑制成分の単離及び同定. 第117回日本薬理学会近畿部会 (徳島市、2010年7月)
- 5) Fukui H, Hiroyuki Mizuguchi H, Kitamura Y, Kuroda W, Takeda N. Histamine H₁ receptor gene as an allergic rhinitis sensitive gene. 14th International Congress of Immunology (神戸市、2010年8月)

- 6) 福井裕行. 抗ヒスタミン薬の鼻過敏症治療における分子薬理学. 第 49 回日本鼻科学会総会 (札幌市, 2010 年 8 月)
- 7) 金山知代, 水口博之, 加藤周平, 成相祐希, 柏田良樹, 根本尚夫, 高石喜久, 福井裕行. 苦参に含まれるアレルギー疾患感受性遺伝子発現抑制物質の単離と同定. 第 27 回和漢医薬学会 (京都市, 2010 年 8 月)
- 8) 金山知代, 水口博之, 加藤周平, 成相祐希, 柏田良樹, 根本尚夫, 高石喜久, 福井裕行. 苦参に含まれるアレルギー疾患感受性遺伝子発現機構を標的とする新規抗アレルギー成分の単離と同定. 第 14 回日本ヒスタミン学会 (川崎市, 2010 年 10 月)
- 9) 福井裕行, 大岸弘敬, 近藤勇人, 黒田若奈, 北村嘉章, 水口博之, 武田憲昭. ヒスタミン H₁ 受容体シグナルにより調節を受けるアレルギー疾患感受性遺伝子群. 第 14 回日本ヒスタミン学会 (川崎市, 2010 年 11 月)
- 10) Fukui H. Histamine H₁ receptor gene as an allergic disease-sensitive gene. International Conference on Folk and Herbal Medicine (Udaipur, India, 2010 年 11 月)
- 11) 北村嘉章, 水口博之, 福井裕行, 武田憲昭. ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現の亢進メカニズムと花粉症初期療法の分子機構. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (東京都, 2010 年 11 月)
- 12) 水口博之, 金山知代, 成相祐希, 加藤周平, 柏田良樹, 根本尚夫, 川添和義, 高石喜久, 福井裕行. 和漢薬苦参に見いだされたアレルギー疾患感受性遺伝子発現抑制作用を有する新規抗アレルギー化合物の同定. BMB2010, 第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会, 合同大会 (神戸市, 2010 年 12 月)
- 13) 水口博之, 福井裕行. プロテインキナーゼ C- δ を標的とする天然物由来アレルギー疾患治療薬. 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜市, 2011 年 3 月)
- 14) 水口博之, 寺尾拓馬, 坂本典子, 吉村好之, 山脇洋輔, 藤本勝巳, 福井裕行. Ku86 は HeLa 細胞における PMA 刺激に伴うヒスタミン H₁ 受容体の転写亢進を抑制する. 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜市, 2011 年 3 月)
- 15) 成相祐希, 水口博之, 金山知代, 加藤周平, 柏田良樹, 根本尚夫, 高石喜久, 武田憲昭, 福井裕行. 苦参から見出された新規抗アレルギー成分 *maackiain* の単離・同定およびその性質について. 日本薬学会第 131 年会 (静岡市, 2011 年 3 月)
- 16) 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.
- 17) Nakayama M, Aderem A, Kawano M, Okumura K, Takai T, Ogasawara K: *Staphylococcus aureus* binds to paired Ig-like receptor-B to suppress the innate immune responses. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Japan. Aug 22-27, 2010.
- 18) Kawano M, Nakayama M, Ogasawara K: Specific T cells increased by metal allergy. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Japan. Aug 22-27,

2010.

19) 中山勝文、奥村康、小笠原康悦：Tim-3 を介する CD8 α ⁺ DC の死細胞貪食および クロスプレゼンテーション機構 第 6 回 血液学若手研究者勉強会（麒麟塾） 東京 2010 年 6 月 5 日

20) 有信洋二郎. IL-25 (IL-17E)レセプター は、骨髄球系前駆細胞に発現する. 第 54 回 日本リウマチ学会総会・学術集会、2010、神戸

21) Izuhara K. Pharmacogenetics. IFCC C-CMBC Committee Activity “MOLECULAR DIAGNOSTICS FOR BEGINNERS”(Lecture). 2010, Montevideo (Uruguay)

22) Izuhara K, Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Suzuki S. Periostin, an extracellular matrix protein, acts as a master switch for the onset of inflammation in atopic dermatitis. 28th Collegium Internationale Allergologicum (Workshop). 2010, Ischia (Italy)

23) 有馬和彦、出原賢治、Liu Yong-Jun. TSLP とアレルギー. 第 31 回日本炎症・再生医学会（シンポジウム）. 2010、東京

24) 出原賢治. マイクロアレイによる IL-13 誘導遺伝子の同定とその機能解析. 第 60 回日本アレルギー学会秋季学術大会（シンポジウム）. 2010、東京

25) Hoshino T, Okamoto M, Kitasato Y, Ohta S, Uchida M, Kato S, Kawayama T, Izuhara K, Aizawa H. Enhanced expression of periostin in lungs and sera of idiopathic pulmonary fibrosis. 2010 American Thoracic Society International Conference. 2010, USA

26) Nakamura Y, Akiyama M, Nagashima H, Sasaki N, Nitani H, Kanno H, Sawai T, Hirota T, Tamari M, Izuhara K, Yamauchi K, Inoue H. Effects of intervention with high-dose inhaled corticosteroids on airway remodelling in diagnosed genetic variants of IL13 with asthma. European Respiratory Society Annual Meeting 2010. 2010, Spain

27) Kawaguchi T, Fujimoto K, Nakashima O, Suzuki S, Shiraishi H, Ohta S, Kawaguchi A, Tonan T, Oshima K, Yano H, Hayabuchi N, Izuhara K, Sata M. Periostin, a matrix protein, is a novel serodiagnostic marker for cholangiocarcinoma. The 61th annual meeting of the American association for the study of Liver diseases. The Liver Meeting. 2010, Boston (USA)

28) Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Suzuki S, Sutoh H, Inagaki N, Furue M, Izuhara K. Periostin, an extracellular matrix protein, is a critical mediator for amplification and chronicity of inflammation in atopic dermatitis. 14th International Congress of Immunology. 2010, Kobe

H. 知的財産権の出願登録状況

1. 特許取得

1) 鼻粘膜検体内部標準遺伝子、発明者：福井裕行、水口博之、武田憲昭、出願人：徳島大学、特願 2010-258476、出願日：2010 年 11 月.19 日

2) 抗アレルギー組成物、抗アレルギー物質

- セット、及び抗アレルギー物質セットの製造方法、発明者：福井裕行、水口博之、武田憲昭、出願人：徳島大学、特願2011-011472、出願日：2011年1月22日
- 3) 制御性T細胞の製造方法（特開2010-004853）
- 4) 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法（特開2010-207200）
- 5) 増殖糖尿病網膜症の検出方法及び予防・治療剤のスクリーニング方法。（特願2010-093240）、出願日2010年4月14日、出願人：国立大学法人佐賀大学他、発明者：出原賢治、白石裕士他
- 6) ペリオスチン測定の正確性の改善方法。（特願2010-200564）、出願日2010年9月8日、出願人：国立大学法人佐賀大学他、発明者：出原賢治、白石裕士他

II. 分担研究報告