

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

Oboki K, Saito H. Proteases in allergy. In "Inflammation and Allergy Drug Design" ed. by Izuhara K, Holgate ST, Wills-Karp M. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK. 2011 (in press)

2. 学会発表

Saito H. Plenary Lecture: How to achieve primary prevention of asthma in childhood. 19th Congress of Interasma Japan/North Asia. Tokyo, Japan (K. Dobashi). Jul. 10-11, 2009.

Saito H. Comparison of molecule-targeted drugs and traditional medicines for treating allergic diseases. 12th International Symposium on Traditional Medicine. Toyama, Japan (Makoto Kadowaki). Nov. 26-27, 2009.

斎藤博久. 講演 アレルギー疾患関連遺伝子網羅的解析研究の成果. 第 17 回関東アレルギークラブ (東京)、平成 21 年 3 月 7 日.

斎藤博久. アレルギーはなぜおこるのか? どうしたら防げるのか? 第 40 回大阪皮膚科医会 (大阪)、平成 21 年 6 月 13 日.

斎藤博久. アレルギーはどうしたら予防できるのか? 第 2 回岐阜免疫・感染・川崎病研究会 (岐阜)、平成 21 年 7 月 16 日.

斎藤博久. アレルギーはなぜおこるのか? どうしたら防げるのか? 第 25 回多摩小児アレルギー臨床懇話会 (東京)、平成 21 年 9 月 26 日.

斎藤博久. アレルギー疾患の発症予防・総論 (食物アレルギー・アトピー性皮膚炎など). シンポジウム 5 「アレルギー疾患の発症予防はどこまで可能か」. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (秋田)、平成 21 年 10 月 29 日.

Saito H. Yoji Iikura Memorial Lecture. Cells and Molecules Necessary to Acquire Non-Allergic Predisposition. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (秋田)、平成 21 年 10 月 29 日.

Saito H. Results of National Genome Project on Allergy. Symposium 16: Genetics of

Allergic Disorders. The APCAACI 2010 (The 8th Asia Pacific Congress of Allergy, Asthma and Clinical Immunology) in conjunction with the APAPARI (Asia Pacific Association of Pediatric, Allergy, Respiriology and Immunology) Annual Meeting. Singapore (Chnk Hiok Hee). Nov. 6-9, 2010.

Saito H. Plenary Lecture: Role of IL-33 in Allergy and Inflammation. The 2010 Korean Academy of Allergy, Asthma and Clinical Immunology (KAAACI) Autumn Congress. Muju, Korea (Hee-Bom Moon), Nov. 20, 2010.

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

Saito H. Invited Lecture: The mast cell and basophil transcriptome. EMBRN/COST International Mast Cell and Basophil Meeting. Southampton, UK (Andrew F Walls). Nov. 23-25, 2011.

Saito H. Intorduction. Breakfast Symposium: "Milk Induced Disorders". 22th World Allergy Organization Congress. Cancun, Mexico (Richard F. Lockey). Dec.4-8, 2011.

Saito H. Pros. Debate Symposium: "Are Basophils Important in Allergy?". 22th World Allergy Organization Congress. Cancun, Mexico (Richard F. Lockey). Dec.4-8, 2011.

Saito H. Invited Lecture: Barrier tissue-derived molecules and allergic diseases. UK-Japan Workshop on Personalised Medicine. British Embassy Tokyo, Japan. Feb. 13-16, 2012.

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：Treg 細胞の増幅誘導抗体の探索

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：一般的に使用されている Treg の誘導法、anti-CD3/CD28 + TGF- β では、Treg 細胞だけでなく活性化 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 細胞特異的な増幅法とは言いがたい。一方、マスト細胞と CD4⁺T 細胞を IL-33 の存在下で共培養を行うことにより、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 細胞を選択的に増幅させることができる。そこで、マスト細胞と CD4⁺T 細胞の共培養により、選択的かつ効率的に Treg 細胞を誘導するような IL-33 以外の因子の探索や培養条件の検討を行うことを目的とする。培養に使用する IL-33 は、ヒト IL-33 遺伝子を導入した組換え体大腸菌から精製する。その過程で組換え体 IL-33 に混入する大腸菌由来の異物は、本培養系で増幅した制御性 T 細胞を生体に戻す際の弊害となりうる可能性が懸念される。つまり、大腸菌由来ではない IL-33 代替物が必要になる。そこで、代替候補として、IL-33 受容体に対する刺激抗体等に注目することで、制御性 T 細胞増幅系の改善を試みる。IL-33 の存在下で、T 細胞とマスト細胞を共培養する系による Treg 細胞の増幅法の更なる改良を試みた。その結果、入手しえた抗 IL-33 受容体抗体には、ヒトおよびマウスのマスト細胞を刺激しうるものではなく、リコンビナント IL-33 の代替として使用できないことが明らかになった。また、IL-33 以外のマスト細胞の刺激因子と比較して、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。培養に使用する IL-33 は、ヒト IL-33 遺伝子を導入した組換え体大腸菌から精製する。その過程で組換え体 IL-33 に混入する大腸菌由来の異物は、本培養系で増幅した制御性 T 細胞を生体に戻す際の弊害となりうる可能性が懸念される。そのため、大腸菌由来ではない IL-33 に代替しうるものが必要になる。そこで、代替候補として、IL-33 受容体に対する刺激抗体に注目し、そのような抗体をスクリーニングすることを目的とする。

また、一般的に使用されている Treg 細胞の誘導法、anti-CD3/CD28 + TGF- β では、Treg 細胞だけでなく活性化 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 細胞の増幅への TCR 刺激と IL-33、TGF- β 、IL-2 の影響評価を目的とする。

B. 方法

IL-33 受容体に対する入手可能な抗体をマウスおよびヒトのマスト細胞に作用させ、マスト

細胞からのサイトカイン産生を促進できるような刺激抗体を探す。マウスの IL-33 受容体に対する抗体は、従来評価した市販のモノクローナル抗体 3 種 (clone 245707, 245714 及び DJ8) に加え、ドイツの研究者が作成したモノクローナル抗体 1 種 (3E10) および市販のポリクローナル抗体 1 種を使用した。ヒト IL-33 受容体に対する抗体は、市販のモノクローナル抗体 3 種 (clone 97203, D14L および 14J07) を使用した。

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- β 、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

ドイツの研究者が作成した抗 IL-33 受容体抗体 3E10 は、IL-33 受容体を発現する Th2 細胞を活性化し、サイトカイン産生を増強できる刺激抗体と報告されていたものであったが、マスト細胞に対しては、マウスマスト細胞から IL-6 及び IL-13 産生を誘導しなかった。同様に、他の

マウス IL-33 受容体に対するモノクローナル抗体 3 種およびポリクローナル抗体 1 種、ヒト IL-33 受容体に対するモノクローナル抗体 3 種についても、マウスおよびヒトマスト細胞を活性化するには至らなかった。ラット由来の受容体抗体 3E10 による Th2 細胞の活性化には、3E10 を細胞に添加後、抗ラット IgG 抗体をさらに加えて、3E10 を架橋することで効率が上がることが報告されている。同様に、マウスおよびヒトマスト細胞においても、各種抗 IL-33 受容体抗体に対する二次抗体を添加し、架橋による影響の評価をおこなったが、マスト細胞の活性化を誘導する条件は見いだせなかった。

マスト細胞と CD4⁺T 細胞を IgE、LPS、IFN- γ 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17F、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-31、IL-33、IL-36 α 、IL-36 β 、IL-36 γ 、IL-36Ra、LIGHT、SCF、TGF- α 、TGF- β 1 あるいは TSLP の存在下で培養を行い、3-4 日後に、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 細胞の存在をフローサイトメトリーで評価を行ったところ、IL-33 のみが Treg 細胞を誘導した。

固相化抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体で T 細胞を刺激する際、TGF- β 1 あるいは、IL-33 を添加することにより、Treg 細胞誘導の可否をフローサイトメトリーにより評価を行ったが、TGF- β 1 では、Treg 細胞の分化誘導が認められたが、IL-33 では、そのような効果は認められなかった。

マスト細胞と CD4⁺T 細胞を IL-33 の存在下で共培養を行うことにより Treg 細胞を誘導する際、さらに、抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体を添加したが、Treg 細胞数は、抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体を添加により増強することはなかった。

D. 考察

入手しえた抗 IL-33 受容体抗体には、ヒトおよびマウスのマスト細胞を刺激しうるものはなく、この目的のための刺激抗体を新たに作製する、もしくは、組換え体 IL-33 を大腸菌で作製するのではなく、哺乳動物細胞株を使用して調製することにより、本課題の問題点である大腸菌由来の異物の混入を防ぐ方法といえる。通常、体外での Treg 細胞の増幅は、未感作 T 細胞を TGF- β 1 の存在下で、固相化抗 CD3 抗体（プラス抗 CD28 抗体）といった T 細胞受容体からの刺激を与えることによって行われる。し

かしながら、この方法では CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 細胞よりも、CD4⁺CD25⁺Foxp3-negative 活性化 T 細胞が多く存在し、選択的な Treg 細胞の誘導法という点では改良すべき課題が残されている。一方、IL-33 は、TGF- β 1 とは異なり、未感作 T 細胞を固相化抗 CD3 抗体（プラス抗 CD28 抗体）刺激した場合には Treg 細胞を誘導することはできないが、マスト細胞と T 細胞の共培養系では、活性化 T 細胞は誘導せず、Treg 細胞のみを選択的に誘導できる特異性の高さの確認がされ、本系の有用性が期待された。

E. 結論

本研究では、マスト細胞と CD4⁺T 細胞の共培養により、選択的かつ効率的に Treg 細胞を誘導するような IL-33 以外の因子の探索や培養条件の検討を行うことを目的とした。市販品を含めて入手可能な抗 IL-33 抗体のうち、大腸菌由来のリコンビナント IL-33 の代替として使用できるような刺激抗体は存在しない (PLoS One, 6, e18404, 2011)、マスト細胞と CD4⁺T 細胞の共培養の際、Treg 細胞を誘導できる因子は、IgE、LPS、および 30 種類以上のサイトカインのうちで IL-33 のみである、T 細胞受容体刺激を併用した場合、IL-33 は Treg 細胞の誘導はできない、という結果から、IL-33 の存在下でマスト細胞と CD4⁺T 細胞の共培養を行うことが最も Treg 細胞の誘導に適している条件であることが証明できた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Niyonsaba F, Suzuki A, Ushio H, Nagaoka I, Ogawa H, and Okumura K. The human antimicrobial peptide dermcidin activates normal human keratinocytes. *Br J Dermatol*, 160(2):243-9. 2009

Kinoshita H, Takai T, Le TA, Kamijo S, Wang XL, Ushio H, Hara M, Kawasaki J, Vu AT, Ogawa T, Gunawan H, Ikeda S, Okumura K, and Ogawa H. Cytokine milieu modulates release of thymic stromal lymphopoietin from human keratinocytes stimulated with double-stranded RNA. *J Allergy Clin Immunol*, 123:179-86. 2009

Seto T, Takai T, Ebihara N, Matsuoka H, Wang XL, Ishii A, Ogawa H, Murakami A, and Okumura K. SLPI prevents cytokine release in mite protease-exposed conjunctival epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 379:681-5, 2009

Nakano N, Nishiyama C, Yagita H, Koyanagi A, Akiba H, Chiba S, Ogawa H, and Okumura K. Notch signaling confers antigen-presenting cell functions on mast cells. *J Allergy Clin Immunol*,

123:74-81.e1, 2009

Shimokawa N, Nishiyama C, Hirota T, Tamari M, Hara M, Ikeda S, Okumura K, and Ogawa H. Functional analysis of a polymorphism in the promoter region of the IL-12/23p40 gene. *Clin Exp Allergy*, 39:228-35, 2009

Sekine C, Moriyama Y, Koyanagi A, Koyama N, Ogata H, Okumura K, and Yagita H. Differential regulation of splenic CD8⁺ dendritic cells and marginal zone B cells by Notch ligands. *Int Immunol*, 21:295-301, 2009

Aoyama T, Ikejima K, Kon K, Okumura K, Arai K, and Watanabe S. Pioglitazone promotes survival and prevents hepatic regeneration failure after partial hepatectomy in obese and diabetic KK-A(y) mice. *Hepatology*. 49:1636-44, 2009

Nakayama M, Akiba H, Takeda K, Kojima Y, Hashiguchi M, Azuma M, Yagita H, and Okumura K. Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation. *Blood*, 113:3821-30, 2009

Takai T, Ochiai Y, Ichikawa S, Sato E, Ogawa T, Tokura T, Kuhara T, Kawai H, Hatanaka H, Takahashi S, Ogawa H, and Okumura K. Enzyme-linked immunosorbent assays with high sensitivity for antigen-specific and total murine IgE: a useful tool for the study of allergies in mouse models. *Allergol Int*, 58:225-35, 2009

Ishikawa Y, Tokura T, Ushio H, Niyonsaba F, Yamamoto Y, Tadokoro T, Ogawa H, and Okumura K. Lipid-soluble components of honeybee-collected pollen exert antiallergic effect by inhibiting IgE-mediated mast cell activation in vivo. *Phytother Res*, 23:1581-6. 2009

Le TA, Takai T, Kinoshita H, Suto H, Ikeda S, Okumura K, and Ogawa H. Inhibition of double-stranded RNA-induced TSLP in human keratinocytes by glucocorticoids. *Allergy*, 64:1231-2, 2009

Kato T, Takai T, Fujimura T, Matsuoka H, Ogawa T, Murayama K, Ishii A, Ikeda S, Okumura K, and Ogawa H. Mite serine protease activates protease-activated receptor-2 and induces cytokine release in human keratinocytes. *Allergy*, 64:1366-74, 2009

Ito T, Nishiyama C, Nakano N, Nishiyama M, Usui Y, Takeda K, Kanada S, Fukuyama K, Akiba

H, Tokura T, Hara M, Tsuboi R, Ogawa H, and Okumura K. Roles of PU.1 in monocyte- and mast cell-specific gene regulation: PU.1 transactivates CIITA pIV in cooperation with IFN- γ . *Int Immunol*, 21:803-16, 2009

Wang XL, Takai T, Kamijo S, Gunawan H, Ogawa H, and Okumura K. NADPH oxidase activity in allergenic pollen grains of different plant species. *Biochem Biophys Res Commun*, 387:430-4, 2009

Niyonsaba F, Nagaoka I, Ogawa H, and Okumura K. Multifunctional antimicrobial proteins and peptides: natural activators of immune systems. *Curr Pharm Des*, 15:2393-413. 2009

Fukai T, Nishiyama C, Kanada S, Nakano N, Hara M, Tokura T, Ikeda S, Ogawa H, and Okumura K. Involvement of PU.1 in the transcriptional regulation of TNF- α . *Biochem Biophys Res Commun*, 388:102-6, 2009

Kamijo S, Takai T, Kuhara T, Tokura T, Ushio H, Ota M, Harada N, Ogawa H, and Okumura K. Cupressaceae pollen grains modulate dendritic cell response and exhibit IgE-inducing adjuvant activity in vivo. *J Immunol*, 183:6087-94. 2009

Takenaka H, Ushio H, Niyonsaba F, Jayawardana ST, Hajime S, Ikeda S, Ogawa H, and Okumura K. Synergistic augmentation of inflammatory cytokine productions from murine mast cells by monomeric IgE and toll-like receptor ligands. *Biochem Biophys Res Commun*. 391:471-6. 2010

Potaczek DP, Maeda K, Wang QH, Nakano N, Kanada S, Stepień E, Branicka A, Fukai T, Hara M, Tokura T, Ogawa H, Undas A, Okumura K, and Nishiyama C. Fc ϵ RI α gene -18483A>C polymorphism affects transcriptional activity through YY1 binding. *Immunogenetics*, 61:649-55, 2009

Potaczek DP, Wang QH, Sanak M, Tokura T, Matsuda H, Dziedzina S, Nakano N, Hara M, Ogawa H, Szczeklik A, Okumura K, and Nishiyama C. Interaction of functional FCER2 promoter polymorphism and phenotype-associated haplotypes. *Tissue Antigens*, 74:534-8, 2009

Takai T, Kato T, Hatanaka H, Inui K, Nakazawa T, Ichikawa S, Mitsuishi K, Ogawa H, and Okumura K. Modulation of allergenicity of major house dust mite allergens Der f 1 and Der p 1 by interaction with an endogenous ligand. *J Immunol*,

183:7958-65, 2009

Potaczek DP, Kwasny-Krochin B, Nishiyama C, Okumura K, Gluszek P, and Undas A. Tissue factor +5466A>G and -1208D>I genetic polymorphisms and severity of rheumatoid arthritis. *Clin Chem Lab Med*, 48:423-5. 2010

Fujimura J, Takeda K, Kaduka Y, Saito M, Akiba H, Yagita H, Yamashiro Y, Shimizu T, and Okumura K. Contribution of B7RP-1/ICOS co-stimulation to lethal acute GVHD. *Pediatr Transplant*, 14(4):540-8, 2010

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, and Nishiyama C. FcepsilonRIalpha gene (FCER1A) promoter polymorphisms and total serum IgE levels in Japanese atopic dermatitis patients. *Int J Immunogenet*, 37:139-41, 2010

Niyonsaba F, Ushio H, Hara M, Yokoi H, Tominaga M, Takamori K, Kajiwara N, Saito H, Nagaoka I, Ogawa H, and 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*, 184:3526-34. 2010.

Le TA, Takai T, Vu AT, Kinoshita H, Ikeda S, Ogawa H, and 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*. 153:27-34, 2010

Wang QH, Nishiyama C, Nakano N, Kanada S, Hara M, Kitamura N, Shimokawa N, Lu CL, Ogawa H, and Okumura K. Opposite effects of Trichostatin A on activation of mast cells by different stimulants. *FEBS Lett*, 584:2315-20, 2010

Takeda K, Kojima Y, Uno T, Hayakawa Y, Teng MW, Yoshizawa H, Yagita H, Gejyo F, Okumura K, and Smyth MJ. Combination therapy of established tumors by antibodies targeting immune activating and suppressing molecules. *J Immunol*, 184(10):5493-501. 2010

Shimokawa N, Nishiyama C, Nakano N, Maeda K, Suzuki R, Hara M, Fukai T, Tokura T, Miyajima H,

Nakao A, Ogawa H, and Okumura K. Suppressive effects of transcription factor GATA-1 on cell type-specific gene expression in dendritic cells. *Immunogenetics*, 62:421-9. 2010

Kon K, Ikejima K, Okumura K, Arai K, Aoyama T, and Watanabe S. Diabetic KK-A(y) mice are highly susceptible to oxidative hepatocellular damage induced by acetaminophen. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 299:G329-37. 2010

Bashuda H, Shimizu A, Uchiyama M, and Okumura K. Prolongation of renal allograft survival by anergic cells: advantages and limitations. *Clin Transplant*, 24 Suppl 22:6-10. 2010.

Maeda K, Nishiyama C, Ogawa H, and Okumura K. GATA2 and Sp1 positively regulate the c-kit promoter in mast cells. *J Immunol*. 185:4252-60, 2010

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 TSLP in keratinocytes via the TLR2-TLR6 pathway. *J Allergy Clin Immunol*, 126:985-993.e1-3, 2010

Takenaka H, Ushio H, Niyonsaba F, Jayawardana ST, Hajime S, Ikeda S, Ogawa H, and Okumura K. Synergistic augmentation of inflammatory cytokine productions from murine mast cells by monomeric IgE and toll-like receptor ligands. *Biochem Biophys Res Commun*, 391: 471-6, 2010

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

Vu AT, Chen X, Xie Y, Kamijo S, Ushio H, Kawasaki J, Hara M, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H, Takai T. Extracellular double-stranded RNA induces TSLP via an endosomal acidification- and NF-kB-dependent pathway in human keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 131:2205-12, 2011

Nakamura Y, Harama D, Shimokawa N, Hara M, Suzuki R, Tahara Y, Ishimaru K, Katoh R, Okumura K, Ogawa H, Shibata S, Nakao A. Circadian clock gene *Period2* regulates a time-of-day-dependent variation in cutaneous anaphylactic reaction. *J Allergy Clin Immunol*.

127(4):1038-45.e1-3, 2011.

Ohno T, Oboki K, Morita H, Kajiwara N, Arae K, Tanaka S, Ikeda M, Iikura M, Akiyama T, Inoue J, Matsumoto K, Sudo K, Azuma M, Okumura K, Kamradt T, Saito H, Nakae S. Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation. *PLoS One*. 2011 Apr 11;6(4):e18404.

Shibui A, Nambu A, Shimura E, Yamaguchi S, Shiraishi C, Sato Y, Okumura K, Sugano S, Hozumi N, Nakae S. Alteration of immune responses by N-acetylglucosaminyltransferase V during allergic airway inflammation. *Allergol Int*. 2011 Sep;60(3):345-54.

Io H, Matsumoto M, Okumura K, Sato M, Masuda A, Furukawa M, Nohara N, Tanimoto M, Kodama F, Hagiwara S, Gohda T, Shimizu Y, and Tomino Y. Predictive factors associated with left ventricular hypertrophy at baseline and in the follow-up period in non-diabetic hemodialysis patients. *Semin Dial*. 24:349-54, 2011.

Wang X, Ikejima K, Kon K, Arai K, Aoyama T, Okumura K, Abe W, Sato N, and Watanabe S. Ursolic acid ameliorates hepatic fibrosis in the rat by specific induction of apoptosis in hepatic stellate cells. *J Hepatol*. 55:379-87. 2011.

Itoh S, Kimura N, Axtell RC, Velotta JB, Gong Y, Wang X, Kajiwara N, Nambu A, Shimura E, Adachi H, Iwakura Y, Saito H, Okumura K, Sudo K, Steinman L, Robbins RC, Nakae S, Fischbein MP. Interleukin-17 accelerates allograft rejection by suppressing regulatory T cell expansion. *Circulation*. 124(11 Suppl):S187-96, 2011.

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, and Nakano H. Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells. *J Allergy Clin Immunol*, 127: 1267-76 e6, 2011

Suzuki K, Kaminuma O, Yang L, Takai T, Mori A, Umezu-Goto M, Ohtomo T, Ohmachi Y, Noda Y, Hirose S, Okumura K, Ogawa H, Takada K, Hirasawa M, Hiroi T, and Takaiwa F. Prevention of allergic asthma by vaccination with transgenic rice seed expressing mite allergen: induction of allergen-specific oral tolerance without bystander suppression. *Plant Biotechnol J*, 9:982-90, 2011

Potaczek D, Pieculewicz M, Mazur M, Branicka A, Nishiyama C, Okumura K, and 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 Cardiology*, 147:e13-15, 2011

Potaczek D P, Nastalek M, Wajas-Pelc A, Okumura K, Undas A, and Nishiyama C. Naturally occurring *FCERIA* N222K mutation – its ethnicity-dependent distribution and a role in atopic dermatitis. *Mol Immunol*, 48:979-980, 2011.

Potaczek D P, Nastalek M, Okumura K, Wojas-Pelc A, Undas A, and Nishiyama C. An association of *TLR2*-16934A>T polymorphism and severity/phenotype of atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 25:715-21, 2011

Nishida C, Tomita T, Nishiyama M, Suzuki R, Hara M, Itoh Y, Ogawa H, Okumura K, and Nishiyama C. B-transferase with Pro234Ser substitution acquires AB-transferase activity. *Biosci Biotechnol Biochem*, 75:1570-5, 2011

Nakano N, Nishiyama C, Yagita H, Koyanagi A, Ogawa H, and Okumura K. Notch1-mediated signaling induces MHC class II expression through activation of class II transactivator promoter III in mast cells. *J Biol Chem*, 86:12042-12048, 2011

Le TA, Takai, T, Vu AT, Kinoshita H, Chen X, Ikeda S, Ogawa H, and Okumura K. Flagellin induces the expression of thymic stromal lymphopoietin in human keratinocytes via Toll-like receptor 5. *Int Arch Allergy Immunol*, 155:31-37, 2011

Kawasaki J, Ushio H, Kinoshita H, Fukai T, Niyonsaba F, Takai T, Ogawa H, Okumura K, and Ikeda S. Viral infection induces Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in human keratinocytes. *J Dermatol Sci*, 62: 131-4, 2011

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

Ma J, Usui Y, Takeda K, Harada N, Yagita H, Okumura K, and Akiba H. TIM-1 signaling in B cells regulates antibody production. *Biochem*

- Biophys Res Commun, 406:223-8. 2011
- Piao JH, Hasegawa M, Heissig B, Hattori K, Takeda K, Iwakura Y, Okumura K, Inohara N, and 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*, 286:17879-88. 2011
- Kawamoto T, Abe Y, Ito J, Makino F, Kojima Y, Usui Y, Ma J, Morimoto S, Yagita H, Okumura K, Takasaki Y, Akiba H. Anti-T cell immunoglobulin and mucin domain-2 monoclonal antibody exacerbates collagen-induced arthritis by stimulating B cells. *Arthritis Res Ther*, 22:R47, 2011
- Takeda K, Nakayama M, Sakaki M, Hayakawa Y, Imawari M, Ogasawara K, Okumura K, and Smyth MJ: IFN- γ production by lung NK cells is critical for the natural resistance to pulmonary metastasis of B16 melanoma in mice. *J Leukoc Biol*, 90:777-85, 2011
- Ito J, Harada N, Nagashima O, Makino F, Usui Y, Yagita H, Okumura K, Dorscheid DR, Atsuta R, Akiba H, and Takahashi K. Wound-induced TGF- β 1 and TGF β 2 enhance airway epithelial repair via HB-EGF and TGF- α . *Biochem Biophys Res Commun*, 412:109-14, 2011
- Hoq MI, Niyonsaba F, Ushio H, Aung G, Okumura K, and Ogawa H. Human catestatin enhances migration and proliferation of normal human epidermal keratinocytes. *J Dermatol Sci*, 64:108-18, 2011
- Watanabe T, Kanamaru Y, Liu C, Suzuki Y, Tada N, Okumura K, Horikoshi S, and Tomino Y. Negative regulation of inflammatory responses by immunoglobulin A receptor (Fc α RI) inhibits the development of Toll-like receptor-9 signalling-accelerated glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol*, 166: 235-50, 2011
- Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Kajiwaru N, Saito H, Ikeda S, Ogawa H, and Okumura K. Catestatin, a neuroendocrine antimicrobial peptide, induces human mast cell migration, degranulation and production of cytokines and chemokines. *Immunology*, 132: 527-39, 2011
- Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Ikeda S, Okumura K, and Ogawa H. Elafin and secretory leukocyte protease inhibitor stimulate the production of cytokines and chemokines by human keratinocytes via MAPK/ERK and NF- κ B activation. *J Dermatol Sci*, 63: 128-131, 2011
- Aung G, Niyonsaba F, Ushio H, Hoq MI, Ikeda S, Ogawa H, and Okumura K. A neuroendocrine antimicrobial peptide, catestatin, stimulates interleukin-8 production from human keratinocytes via activation of mitogen-activated protein kinases. *J Dermatol Sci*, 61: 142-4, 2011
- Kawamura T, Ogawa Y, Shimozato O, Ando T, Nakao A, Kobata T, Okumura K, Yagita H, Shimada S. CD70 is selectively expressed on Th1 but not on Th2 cells and is required for Th1-type immune responses. *J Invest Dermatol*. 131(6):1252-61, 2011.
- Takeda K, Nakayama M, Sakaki M, Hayakawa Y, Imawari M, Ogasawara K, Okumura K, Smyth MJ. IFN- γ production by lung NK cells is critical for the natural resistance to pulmonary metastasis of B16 melanoma in mice. *J Leukoc Biol*. 90(4):777-85, 2011.
- Vu AT, Chen X, Xie Y, Kamijo S, Ushio H, Kawasaki J, Hara M, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H, Takai T. Extracellular double-stranded RNA induces TSLP via an endosomal acidification- and NF- κ B-dependent pathway in human keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 131(11):2205-12, 2011.
- Potaczek DP, Kamijo M, Hara M, Okumura K, Undas A, Nishiyama C. A comparative search for human Fc ϵ RI α gene (FCER1A) 3'-UTR polymorphisms in Japanese and Polish populations. *Mol Biol Rep*. 2011 Jul 3.
- shihara M, Nishida C, Tashiro Y, Gritli I, Rosenkvist J, Koizumi M, Okaji Y, Yamamoto R, Yagita H, Okumura K, Nishikori M, Wanaka K, Tsuda Y, Okada Y, Nakauchi H, Heissig B, Hattori K. Plasmin inhibitor reduces T-cell lymphoid tumor growth by suppressing matrix metalloproteinase-9-dependent CD11b⁺/F4/80⁺ myeloid cell recruitment. *Leukemia*. 26(2):332-9, 2012
- Kojima Y, Nakayama M, Nishina T, Nakano H, Koyanagi M, Takeda K, Okumura K, Yagita H. Importin β 1 protein-mediated nuclear localization of death receptor 5 (DR5) limits DR5/tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced cell death of human

tumor cells. J Biol Chem. 286(50):43383-93, 2011

Kitamura N, Yokoyama H, Yashiro T, Nakano N, Nishiyama M, Kanada S, Fukai T, Hara M, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K, Nishiyama C. Role of PU.1 in MHC class II expression through transcriptional regulation of class II transactivator pI in dendritic cells. J Allergy Clin Immunol. 2011 Nov 21.

Nishina T, Komazawa-Sakon S, Yanaka S, Piao X, Zheng DM, Piao JH, Kojima Y, Yamashina S, Sano E, Putoczki T, Doi T, Ueno T, Ezaki J, Ushio H, Ernst M, Tsumoto K, Okumura K, Nakano H. Interleukin-11 links oxidative stress and compensatory proliferation. Sci Signal. 5(207):ra5., 2012.

Ritprajak P, Hashiguchi M, Akiba H, Yagita H, Okumura K, Azuma M. Antibodies Against B7-DC with Differential Binding Properties Exert Opposite Effects. Hybridoma (Larchmt). 31(1):40-7, 2012.

Sugiyama M, Nakato G, Jinnohara T, Akiba H, Okumura K, Ohno H, Yoshida H. Expression pattern changes and function of RANKL during mouse lymph node microarchitecture development. Int Immunol. 2012 Feb 21.

2. 学会発表

奥村 康、「加齢と免疫-消化器疾患との関わり」、第12回日本高齢消化器病学会（東京）、平成21年7月11日。

奥村 康、「臓器移植と免疫寛容」第45回日本移植学会総会（東京）、平成21年9月18日。

奥村 康「環境因子とアレルギー疾患-特にアトピー性皮膚炎を中心に」、日中医学交流会議（財団法人日中医学協会、社団法人日本医師会）（東京）平成21年10月7日。

奥村 康、「利口な免疫と馬鹿な免疫」第54回日本医真菌学会総会（東京）、平成22年10月16日。

奥村 康、「寛容誘導モデルとしての移植免疫」第61回日本アレルギー学会秋季学術大会（東京）、平成23年11月10日。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 (取得)

(1) 肝炎治療剤（米国特許 6068841）

(2) Fas リガンドに特異的に反応するヒト型化免疫グロブリンもしくはその活性フラグメント並びに Fas リガンドに由来するヒト型化免疫グロブリンアポトーシス誘導領域（豪国特許 725329）

(3) Fas リガンドに特異的に反応するモノクローナル抗体及びその製造方法（日本特許 3451092、英独仏特許 0874288、豪国特許 716731、米国特許 6946255）

(4) 抗マウス TRAIL モノクローナル抗体（日本特許 3585399）

(5) TRAF5 ノックアウトマウス（日本特許 3730804）

(審査中)

(1) TRAF ファミリー分子、その分子をコードするポリヌクレオチド及びその分子に対する抗体

（米国出願 09/138277、欧州出願 97903599.5）

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 細胞増幅誘導機構の解明

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. 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。治療への方向性を考えるときに、IL-33 が、アレルギー性炎症の形成に直接関わっている気道細胞に対し及ぼす作用を詳細かつ正確に解明する事も重要なアプローチである。そこで、IL-33 が気道上皮細胞をターゲットとして機能を制御しうるかを検討した。また、動物喘息モデルでは Treg 細胞の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が報告されている。そこで、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 細胞を移入し、マウス気道炎症モデルへの効果を検討する。

マウスに IL-33 を点鼻により吸入させると、好酸球の強い浸潤を伴う気道炎症が誘導され

る。その際、肺の所属リンパ節では、Treg 細胞が顕著に増えることをこれまでに示してきた。一方、マスト細胞欠損マウスでは、IL-33 吸入後、野生型マウスよりも、肺所属リンパ節での Treg 細胞が著名に少ないため、気道炎症が重症化することが示唆されていた。実際に、IL-33 の存在下で T 細胞とマスト細胞を共培養することで誘導した Treg 細胞をマスト細胞欠損マウスにあらかじめ移入しておくことで、マスト細胞欠損マウスで観察される IL-33 による気道炎症の重症化を防ぐことができる。しかしながら、マスト細胞は通常、リンパ節では稀少であり、リンパ節ではなく、肺の炎症局所で Treg 誘導に関わっている可能性が高い。しかしながら、IL-33 吸入後の肺胞洗浄液中のリンパ球数は好酸球数に比べて遥かに少なく、従来の細胞内分子染色方法による Foxp3 陽性 Treg 細胞の検出は困難であった。そこで、Foxp3 発現とともに GFP を発現するレポーターマウス（Foxp3/eGFP マウス）に IL-33 を吸入させ、肺胞洗浄液中の Foxp3 陽性 Treg 細胞数の変化と、肺の所属リンパ節での Treg 細胞数との相関を評価をする。

B. 方法

マウスの鶏卵白アルブミン感作および刺激を行い、気道・肺局所での IL-33 産生の有無を検討、さらに、IL-33 点鼻投与が喘息モデルに及ぼす影響を調べた。ヒト気道上皮細胞株を用いて、IL-33 受容体 ST2 発現および細胞機能制御につき解析した。

鶏卵白アルブミン喘息モデルでは、鶏卵白アルブミンを alum とともに感作した野生型マウスに、鶏卵白アルブミンを吸入させる前に、マスト細胞と CD4⁺T 細胞を IL-33 の存在下で共培養して得られた Treg 細胞を Treg 細胞マーカーである FR4 に対する磁気ビーズにより精製し、静注により移植した。また、IL-33 吸入による喘息様気道炎症モデルにも、同様に Treg 細胞を IL-33 吸入前日に静脈投与した。鶏卵白アルブミン喘息モデルおよび IL-33 吸入喘息モデルにおける移入した Treg 細胞の影響を評価した。

Foxp3/eGFP マウスに PBS および IL-33 を一日一回、三日間連続吸入し、四日目に肺胞洗浄液と肺の所属リンパ節細胞を回収した。肺胞洗浄液内、および、肺の所属リンパ節細胞中の CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 細胞の割合を EGFP の発現量を指標としてフローサイトメトリーによって解析した。

C. 結果

マウスにおける鶏卵白アルブミン感作喘息モデルにおいて、気道での IL-33 mRNA レベルは増強していた。IL-33 点鼻投与は鶏卵白アルブミン感作喘息モデルにおいて、気道炎症を増強し、気道過敏性を亢進させた。IL-33 の投与により、マウス OVA 感作喘息モデルの BAL 中 IL-12, IL-1 β , KC の有意な上昇が認められた。ヒト培養気道上皮細胞は、IL-33 のレセプター ST2 を発現しており、IL-4 或いは TNF と同時に IL-33 を作用させることにより、ヒト培養気道上皮細胞からの IL-6, eotaxin, IL-8 の発現が有意に増強された。

鶏卵白アルブミン喘息モデルにおいて、Treg 細胞を移植していない群と比較して、抗原吸入前日に Treg 細胞を移植した群では、肺胞洗浄液中の好酸球の数には変化が認められなかったものの、肺胞洗浄液中の IL-4 レベルは顕著に減少しており、Treg 細胞の移入の効果がわずかに認められた。一方で、IL-33 吸入による喘息様気道炎症は Treg 細胞の移入により、好酸球の浸潤が抑制されることが明らかになった。

PBS を吸入した Foxp3/eGFP マウスの肺胞洗浄液中においても EGFP 陽性 Treg 細胞が検出されたが、IL-33 を吸入させると、PBS 吸入群に比べて、肺胞洗浄液中と肺の所属リンパ節で EGFP 陽性 Treg 細胞数が増えていることがわかった。

D. 考察

IL-33 はリンパ球や好酸球・好塩基球のみならず、気道上皮細胞にも作用し、ケモカイン、サイトカイン産生を増強することを介して、アレルギー性気道炎症に関わることが推察された。IL-33 は多種の細胞に対して作用を及ぼすサイトカインであり、この機能を詳細に解析することは重要と考えられる。

鶏卵白アルブミン喘息モデルでの FR4⁺ Treg 細胞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った理由は、FR4⁺ Treg 細胞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。改善点としては、EGFP-Foxp3 レポーターマウスを用いて Treg 細胞をセルソーターで精製を行うことのほか、移入後の Treg 細胞の 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。

IL-33 吸入後、肺胞洗浄液中での Treg 細胞数の増加がみられ、マスト細胞は肺の炎症局所での Treg 細胞の増殖誘導に関わっている可能性が示唆された。その直接的な証明は、マスト細胞欠損マウスに Foxp3/eGFP マウスを交配して得られるマスト細胞欠損 Foxp3/eGFP レポーターマウスに IL-33 を吸入させ、野生型 Foxp3/eGFP マウスと比較検討する必要がある。

E. 結論

IL-33 は免疫・炎症に対して広範な作用を発揮することが明らかとなっているが、気管支喘息の病態において局所で炎症形成に関わりうる気道上皮細胞に対しても機能を増強することが判明した。

マウス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。

IL-33 吸入後、肺所属リンパ節細胞内の Treg 細胞の変動は、肺所属リンパ節細胞内の Treg 細胞の変動と相関することが明らかになった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Suzukawa M, Yamaguchi M, Iikura M, Koketsu R, Komiya A, Nagase H, Nakae S, Matsumoto K, Saito H, Matsushima K, Yamamoto K, Ohta K. IL-33-induced activation of human basophils and

eosinophils via ST2. *Inflammation and Regeneration* 2010; 30(3): 181-185.

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.

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* 2011; 186(9): 5254-5260.

Han K, Suzukawa M, Yamaguchi M, Sugimoto N, Nakase Y, Toda T, Nagase H, Ohta K. The in vitro effects of advanced glycation end products on basophil functions. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 155(suppl 1): 64-70.

Ohta K, Yamaguchi M, Akiyama K, Adachi M, Ichinose M, Takahashi K, Nishimuta T, Morikawa A, Nishima S. Japanese guideline for adult asthma. *Allergol Int* 2011; 60(2): 115-145.

2. 学会発表

鈴木真穂、大田 健、瀬瀬力也、川上綾子、山口正雄、山本一彦、木村美和子、二藤隆春、小宮明子 喉頭ファイバーで誘発されたアナフィラキシー症例の検討. 第 21 回日本アレルギー学会春季臨床大会、岐阜、平成 21 年 6 月 4～6 日

瀬瀬力也、山口正雄、川上綾子、鈴木真穂、小宮明子、関谷 剛、飯倉元保、長瀬洋之、山田浩和、松本健治、斎藤博久、羅 智晴、山本一彦、大田 健 低濃度抗 FCεRIα 抗体によるヒト好塩基球・マスト細胞の活性化制御. 第 19 回国際喘息学会日本北アジア部会、東京、平成 21 年 7 月 10～11 日

山口正雄、長瀬洋之、川畑仁人、神田浩子、瀬瀬力也、小宮明子、山本一彦、大田 健 自己免疫疾患に伴う著明な閉塞性呼吸機能障害: 抗コリン薬吸入の持続的効果. 第 46 回日本臨床生理学会総会、盛岡、平成 21 年 10 月 22～23 日

山口正雄 シンポジウム アレルギー疾患の

治療最前線と将来展望 IgE 抗体療法を含めた抗体療法. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会、秋田、平成 21 年 10 月 29～30 日

山口正雄、鈴木真穂、瀬瀬力也、長瀬洋之、大田 健 臨床・研究のための技術・技能プラクティカルセミナー3 ヒト好塩基球の分離と機能評価の実際. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会、秋田、平成 21 年 10 月 29～30 日

原 麻恵、長瀬洋之、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、鈴木直仁、工藤宏一郎、小林信之、大田 健 喘息治療ステップダウン成功予測因子としての呼気凝縮液/FeNO の検討. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会、秋田、平成 21 年 10 月 29～30 日

山口正雄、瀬瀬力也、鈴木真穂、川上綾子、小宮明子、山田浩和、長瀬洋之、山本一彦、大田 健 病院スタッフを対象としたアナフィラキシー講習会: 参加者アンケートの結果. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会、秋田、平成 21 年 10 月 29～30 日

戸田貴子、長瀬洋之、鈴木真穂、原 麻恵、小島康弘、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、山口正雄、大田 健 Th17 系サイトカインが好酸球からのサイトカイン放出に及ぼす影響. 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会、秋田、平成 21 年 10 月 29～30 日

大田 健、山口正雄 シンポジウム IgE を介した即時型反応の意義 再考 抗 IgE 抗体療法により解明されたこと-小児への可能性も含めて-. 第 46 回日本小児アレルギー学会、福岡、平成 21 年 12 月

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-FcεRI α-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 The 3rd 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.

山口正雄、鈴木真穂、中瀬裕子、杉本直也、戸田貴子、神山麻恵、吉原久直、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、瀬瀬力也、川上綾子、小宮明子、飯倉元保、長瀬洋之、鈴木直仁、山本一彦、大田 健。薬物によるアナフィラキシー症例に対する、omalizumab を用いた IgE 関与証明の試み。第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会（千葉）。2011 年 5 月 14 日。

山口正雄、長瀬洋之、倉持美知雄、田下浩之、新井秀宜、一ノ瀬正和、足立 満、相澤久道、棟方 充、永田 眞、大田 健。気管支喘息患者に対する効果的指導に影響する因子の解析およびコントロール評価法の検討。第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会（千葉）。2011 年 5 月 14 日。

長瀬洋之、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、鈴木直仁、山口正雄、大田 健。気道可逆性試験陰性症例における Imlulse Oscillometry (IOS) 所見。第 21 回国際喘息学会日本・北アジア部会（岐阜）。2011 年 7 月 1 日。

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

研究成果の刊行に関する一覧表 平成 21-23 年度(2009-2011)
 <雑誌>

研究代表者：中江 進

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishigame H, Kakuta S, Nagai T, Kadoki M, Nambu A, Komiyama Y, Fujikado N, Tanahashi Y, Akitsu A, Kotaki H, Sudo K, Nakae S, Sasakawa C, Iwakura Y.	Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucoc epithelial bacterial infection and allergic responses.	Immunity	30	108-119	2009
Nishida K, Hasegawa A, Nakae S, Oboki K, Saito H, Yamasaki S, Hirano T.	Zinc transporter Znt5/Slc30a5 is required for the mast cell-mediated delayed-type allergic reaction but not the immediate-type reaction.	J Exp Med	206	1351-1364	2009
O'Connor W, Jr, Kamanaka M, Booth CJ, Town T, Nakae S, Iwakura Y, Kolls JK, Flavell RA.	A protective function for interleukin 17A in T cell-mediated intestinal inflammation.	Nat Immunol	10	603-609	2009
Ohno T, Oboki K, Kajiwarana N, Morii E, Aozasa K, Flavell RA, Okumura K, Saito H, Nakae S.	Caspase-1, caspase-8, and calpain are dispensable for IL-33 release by macrophages.	J Immunol	183	7890-7897	2009
Tanaka S, Yoshimoto T, Naka T, Nakae S, Iwakura Y, Cua D, Kubo M.	Natural occurring IL-17 producing T cells regulate the initial phase of neutrophil mediated airway responses.	J Immunol	183	7523-7530	2009
Yagami A, Kajiwarana 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	59	277-284	2010
Ishii A, Oboki K, Nambu A, Morita H, Ohno T, Kajiwarana 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	59	399-408	2010
Nambu A, Nakae S.	IL-1 and Allergy.	Allergol Int	59	125-135	2010
Oboki K, Ohno T, Kajiwarana N, Saito H, Nakae S.	IL-33 and IL-33 receptors in host defense and diseases.	Allergol Int	59	143-160	2010
Oboki K, Ohno T,	IL-33 is a crucial amplifier of	Proc Natl Acad Sci	107	18581-18586	2010

Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S.	innate rather than acquired immunity.	U S A			
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	59	207-211	2010
Ohno T, Oboki K, Morita H, Kajiwara N, Arae K, Tanaka S, Ikeda M, Iikura M, Akiyama T, Inoue J, Matsumoto K, Sudo K, Azuma M, Okumura K, Kamradt T, Saito H, Nakae S.	Paracrine IL-33 stimulation enhances lipopolysaccharide-mediated macrophage activation.	PLoS One	6	e18404	2011
Shibui A, Nambu A, Shimura E, Yamaguchi S, Shiraishi C, Sato Y, Okumura K, Sugano S, Hozumi N, Nakae S.	Alteration of immune responses by N-acetylglucosaminyltransferase V during allergic airway inflammation.	Allergol Int	60	345-354	2011
Bonilla WV, Fröhlich A, Senn K, Kallert S, Fernandez M, Johnson S, Kreutzfeldt M, Hegazy AN, Schrick C, Fallon PG, Klemenz R, Nakae S, Adler H, Merkler D, Löhning M, Pinschewer DD.	The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8 ⁺ T cell responses.	Science	335	984-989	2011

分担研究者：斎藤 博久

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Enomoto Y, Orihara K, Takamasu T, Matsuda A, Gon Y, Saito H, Ra C, Okayama Y.	Tissue remodeling induced by hypersecreted epidermal growth factor and amphiregulin in the airway after an acute asthma attack.	J Allergy Clin Immunol	124	913-920	2009
Kato A, Chustz	Dexamethasone and FK506	J Immunol	182	7233-7243	2009

RT, Ogasawara T, Kulka M, Saito H, Schleimer RP, Matsumoto K.	inhibit expression of distinct subsets of chemokines in human mast cells.				
Nishida K, Hasegawa A, Nakae S, Oboki K, Saito H, Yamasaki S, Hirano T.	Zinc transporter Znt5/Slc30a5 is required for the mast cell-mediated delayed-type allergic reaction but not the immediate-type reaction.	J Exp Med	206	1351-1364	2009
Orihara K, Morita H, Yagami A, Kajiwara N, Nakae S, Matsumoto K, Nagasaki H, Saito Y, Saito H, Matsuda A.	TH2 cytokines potently induce an appetite-stimulating peptide, melanin-concentrating hormone, in human vascular endothelial cells.	J Allergy Clin Immunol	124	612-614	2009
Ohno T, Oboki K, Kajiwara N, Morii E, Aozasa K, Flavell RA, Okumura K, Saito H, Nakae S.	Caspase-1, caspase-8, and calpain are dispensable for IL-33 release by macrophages.	J Immunol	183	7890-7897	2009
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	125	1137-1145	2010
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	185	5743-5750	2010
Oboki K, Nakae S, Matsumoto K, Saito H.	IL-33 and Airway Inflammation.	Allergy Asthma Immunol Res	3	81-88	2011
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	207	2675-2687	2010
Harada M, Hirota T, Jodo	TSLP Promoter Polymorphisms are	Am J Respir Cell Mol Biol	44	787-793	2011

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.	Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma.				
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.	154	184-194	2011
Iikura K, Katsunuma T, Saika S, Saito S, Ichinohe S, Ida H, Saito H, Matsumoto K.	Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro.	Int Arch Allergy Immunol.	155 Suppl 1	27-33	2011
Matsumoto K, Fukuda S, Hashimoto N, Saito H.	Human eosinophils produce and release a novel chemokine, CCL23, in vitro.	Int Arch Allergy Immunol.	155 Suppl 1	34-39	2011
Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, Ochiai K, Imoto Y, Sakashita M, Kurosaka F, Akasawa A, Yoshihara S, Kanno N,	Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations.	PLoS Genet	7	e1002170	2011

Yamada Y, Shimojo N, Kohno Y, Suzuki Y, Kang MJ, Kwon JW, Hong SJ, Inoue K, Goto Y, Fumio Yamashita F, Asada T, Iwai N, Tomoike H, Hirose H, Saito I, Fujieda S, Hizawa N, Sakamoto T, Masuko H, Nakamura Y, Nomura I, Tamari M, Arinami T, Yoshida T, Saito H, Matsumoto K.					
---	--	--	--	--	--

分担研究者：奥村 康

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kamijo S, Takai T, Kuhara T, Tokura T, Ushio H, Ota M, Harada N, Ogawa H, Okumura K.	Cupressaceae pollen grains modulate dendritic cell response and exhibit IgE-inducing adjuvant activity in vivo.	J Immunol	183	6087-6094	2009
Kinoshita H, Takai T, Le TA, Kamijo S, Wang XL, Ushio H, Hara M, Kawasaki J, Vu AT, Ogawa T, Gunawan H, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H.	Cytokine milieu modulates release of thymic stromal lymphopoietin from human keratinocytes stimulated with double-stranded RNA.	J Allergy Clin Immunol	123	179-186	2009
Takai T, Kato T, Hatanaka H, Inui K, Nakazawa T, Ichikawa S, Mitsuishi K, Ogawa H, Okumura K.	Modulation of allergenicity of major house dust mite allergens Der f 1 and Der p 1 by interaction with an endogenous ligand.	J Immunol	183	7958-7965	2009
Nakano N, Nishiyama C, Yagita H, Koyanagi A, Akiba H, Chiba S, Ogawa H.	Notch signaling confers antigen-presenting cell functions on mast cells.	J Allergy Clin Immunol	123	74-81	2009

Okumura K.					
Nakayama M, Akiba H, Takeda K, Kojima Y, Hashiguchi M, Azuma M, Yagita H, Okumura K.	Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation.	Blood	113	3821-3830	2009
Maeda K, Nishiyama C, Ogawa H, Okumura K.	GATA2 and Sp1 positively regulate the c-kit promoter in mast cells.	J Immunol	185	4252-4260	2010
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	184	3526-3534	2010
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	126	985-993	2010
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	130	614-617	2010
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, and Nakano H.	Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells.	J Allergy Clin Immunol	127	1267-1276	2011
Kanada S, Nishiyama C, Nakano N, Suzuki R, Maeda	Critical role of transcription factor PU.1 in the expression of CD80 and CD86 on dendritic	Blood	117	2211-2222	2011