

7. Iwamura, C., Shinoda, K., Yoshimura, M., Watanabe, Y., Obata, A. and **Nakayama, T.**: Naringenin-chalcone suppresses allergic asthma by inhibiting the type-2 function of CD4 T cells. *Allergology International* 59:67-73 (2010).
8. Hasegawa, A., Hayashi, K., Kishimoto, H., Yang, M., Tofukuji, S., Suzuki, K., Nakajima, H., Hoffman, R. M., Shirai, M. and **Nakayama, T.**: Color-coded real-time cellular imaging of T lymphocyte accumulation and focus formation in mouse asthma model. *J Allergy Clin. Immunol.* 125:461-468.e6 (2010).
9. Tokoyoda, K., Hauser A. E., **Nakayama, T.** and Radbruch, A.: Organization of immunological memory by bone marrow stroma. *Nat. Rev. Immunol.* 10:193-200 (2010).
10. Suzuki, A., Iwamura, C., Shinoda, K., Tumes, J. D., Kimura, Y. M., Hosokawa, H., Endo, Y., Horiuchi, S., Tokoyoda, K., Koseki, H., Yamashita, M. and **Nakayama, T.**: Polycomb group gene product Ring1B regulates Th2-driven airway inflammation through the inhibition of Bim-mediated apoptosis of effector Th2 cells in the lung. *J. Immunol.* 184:4510-4520 (2010).
11. Suzuki, S., Tanaka, T., Poyurovsky, V. M., Nagano, H., Mayama, T., Ohkubo, S., Lokshin, M., Hosokawa, H., **Nakayama, T.**, Suzuki, Y., Sugano, S., Sato, E., Nagao, T., Yokote, K., Tatsuno, I. and Prives, C.: Phosphate-activated glutaminase (GLS2), a p53-inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:7461-7466 (2010).
12. Fujimura, T., Yonekura, S., Taniguchi, Y., Horiguchi, S., Saito, A., Yasueda, H., **Nakayama, T.**, Takemori, T., Taniguchi, M., Sakaguchi, M. and Okamoto, Y.: The induced regulatory T cell level, defined as the proportion of IL10⁺Foxp3⁺ cells among CD25⁺CD4⁺ leukocytes, is a potential therapeutic biomarker for sublingual immunotherapy: A preliminary report. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 153:378-387 (2010).
13. Ichiiyanagi, T., Imai, T., Kajiwara, C., Mizukami, S., Nakai, A., Nakayama, T. and Udono, H.: Essential role of endogenous heat shock protein 90 of dendritic cells in antigen cross-presentation. *J. Immunol.* 185:2693-2700 (2010).
14. **Nakayama, T.** and Yamashita, M.: The TCR-mediated signaling pathways that control the direction of helper T cell differentiation. *Semin. Immunol.* 22:303-309 (2010).
15. **Nakayama, T.** and Kimura, M. Y.: Memory Th1/Th2 cell generation controlled by Schurri-2. *Adv. Exp. Med. Biol.* 684:1-10 (2010).
16. Onodera, A., Yamashita, M., Endo, Y., Kuwahara, M., Tofukuji, S., Hosokawa, H., Kanai, A., Suzuki, Y. and **Nakayama, T.**: STAT6-mediated displacement of polycomb by trithorax complex establishes long-term maintenance of *GATA3* expression in T helper type 2 cells. *J. Exp. Med.* 207:2493-2506 (2010).
17. Iwamura, C. and **Nakayama, T.**: Role of NKT cells in allergic asthma. *Curr. Opin. Immunol.* 22:807-813(2010).
18. Kurosaki, M., Horiguchi, S., Yamasaki, K., Uchida, Y., Motohashi, S., **Nakayama, T.**, Sugimoto, A. and Okamoto, Y.: Migration and immunological reaction after the administration of α GalCer-pulsed antigen-presenting cells into the submucosa of patients with head and neck cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 60:207-215 (2011).
19. Phung, T. T. B., Luong, S. T., Kawachi, S., Nunoi, H., Nguyen, L. T., **Nakayama, T.** and Suzuki, K.: Interleukin 12 and myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome due to Avian influenza (H5N1) infection. *J. Infect.* 62:104-108 (2011).
20. Aoyagi, T., Yamamoto, N., Hatta, M., Tanno, D., Miyazato, A., Ishii, K., Suzuki, K., **Nakayama, T.**, Taniguchi, M., Kunishima, H., Hirakata, Y., Kaku, M. and Kawakami, K.: Activation of pulmonary invariant NKT cells leads to exacerbation of acute lung injury caused by LPS through local production of IFN- γ and TNF- α by Gr-1⁺ monocytes. *Int. Immunol.* 23:97-108 (2011).
21. Yamasaki, K., Horiguchi, S., Kurosaki, M., Kunii, N., Nagato, K., Hanaoka, H., Shimizu, N., Ueno, N., Yamamoto, S., Taniguchi, M., Motohashi, S., **Nakayama, T.** and Okamoto, Y.: Induction of NKT cell-specific immune responses in cancer tissues after NKT cell-targeted adoptive immunotherapy. *Clin. Immunol.* 138:255-265 (2011).
22. Yamashita, J., Iwamura, C., Sasaki, T., Mitsumori, K., Ohshima, K., Hada, K., Hara, N., Takahashi, M., Kaneshiro, Y., Tanaka, H., Kaneko, K. and **Nakayama, T.**: Apolipoprotein A-II suppressed concanavalin A-induced hepatitis via the inhibition of CD4 T cell function. *J. Immunol.* 186:3410-3420 (2011).
23. Fujimura, T., Yonekura, S., Horiguchi, S., Taniguchi, Y., Saito, A., Yasueda, H., Inamine, A., **Nakayama, T.**, Takemori, T., Taniguchi, M., Sakaguchi, M. and Okamoto, Y.: Increase of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring

- or prognostic biomarkers in 2-year sublingual immunotherapy (SLIT) for Japanese cedar pollinosis. *Clin. Immunol.* 139:65-74 (2011).
24. Hirasaki, Y., Iwamura, C., Yamashita, M., Ito, T., Kitajima, M., Shinoda, K., Namiki, T., Terasawa, K. and **Nakayama, T.**: Repressor of GATA negatively regulates murine contact hypersensitivity through the inhibition of type-2 allergic responses. *Clin. Immunol.* 139:267-276 (2011).
 25. Kitajima, M., Lee, H.-C., **Nakayama, T.** and Ziegler, S. F.: TSLP enhances the function of helper type2 cells. *Eur. J. Immunol.* 41:1862-1870 (2011).
 26. Horiuchi, S., Onodera, A., Hosokawa, H., Watanabe, Y., Tanaka, T., Sugano, S., Suzuki, Y. and **Nakayama, T.**: Genome-wide analysis reveals unique regulation of transcription of Th2-specific genes by GATA3. *J. Immunol.* 186:6378-6389 (2011).
 27. Fujii, H., Ato, M., Takahashi, Y., Otake, K., Hashimoto, S., Kaji, T., Tsunetsugu-Yokota, Y., Fujita, M., Adachi, A., **Nakayama, T.**, Taniguchi, M., Koyasu, S. and Takemori, T.: HIV-1 Nef impairs multiple T-cell functions in antigen-specific immune response in mice. *Int. Immunol.* 23:433-441 (2011).
 28. Kitajima, M., Ito, T., Tumes, J. D., Endo, Y., Onodera, A., Hashimoto, K., Motohashi, S., Yamashita, M., Nishimura, T., Ziegler, F. S. and **Nakayama, T.**: Memory type 2 helper T cells induce long-lasting anti-tumor immunity by activating natural killer cells. *Cancer Res.* 71:4790-4798 (2011).
 29. Nagao, T., Suzuki, K., Utsunomiya, K., Matsumura, M., Saiga, K., Wang, P.-C., Minamitani, H., Aratani, Y., **Nakayama, T.** and Suzuki, K.: Direct activation of glomerular endothelial cells by anti-moesin activity of anti-myeloperoxidase antibody. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26:2752-2760 (2011).
 30. Exley, M. A. and **Nakayama, T.**: NKT-cell-based immunotherapies in clinical trials. *Clin. Immunol.* 140:117-118 (2011).
 31. Motohashi, S., Okamoto, Y., Yoshino, I. and **Nakayama, T.**: Anti-tumor immune responses induced by iNKT cell-based immunotherapy for lung cancer and head and neck cancer. *Clin. Immunol.* 140:167-176 (2011).
 32. Yamauchi, K., Kasuya, Y., Kuroda, F., Tanaka, K., Tsuyusaki, J., Ishizaki, S., Matsunaga, H., Iwamura, C., **Nakayama, T.** and Tatsumi, K.: Attenuation of lung inflammation and fibrosis in CD69-deficient mice after intratracheal bleomycin. *Respir. Res.* 12:131 (2011).
 33. Takahashi, K., Hirose, K., Kawashima, S., Niwa, Y., Wakashin, H., Iwata, A., Tokoyoda, K., Renauld, J.-C., Iwamoto, I., **Nakayama, T.** and Nakajima, H.: IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128:1067-1076 (2011).
 34. Tsuyusaki, J., Kuroda, F., Kasuya, Y., Ishizaki, I., Yamauchi, K., Sugimoto, H., Kono, T., Iwamura, C., **Nakayama, T.** and Tatsumi, K.: Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is attenuated in CD69-deficient mice. *J. Recept. Sig. Transduct. Res.* 31:434-439 (2011).
 35. Endo, Y., Iwamura, C., Kuwahara, M., Suzuki, A., Sugaya, K., Tumes, J. D., Tokoyoda, K., Hosokawa, H., Yamashita, M. and **Nakayama, T.**: Eomesodermin controls interleukin-5 production in memory T helper 2 cells through inhibition of activity of the transcription factor GATA3. *Immunity* 35:733-745 (2011).
 36. Yamashita, J., Iwamura, C., Mitsumori, K., Hosokawa, H., Sasaki, T., Takahashi, M., Tanaka, H., Kaneko, K., Hanazawa, A., Watanabe, Y., Shinoda, K., Tumes, D., Motohashi, S. and **Nakayama, T.**: *Murine Schnurri-2* controls Natural Killer cell function and lymphoma development. *Leuk. Lymphoma* in press.
 37. Satoh, M., Andoh, Y., Clingan, S. C., Ogura, H., Fujii, S., Nakayama, T., Taniguchi, M., Hirata, N., Ishimori, N., Tsutsui, H., Onoe, K., and Iwabuchi, K.: Type II NKT cells stimulate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation, steatohepatitis and insulin resistance. *PLoS ONE* in press.
2. 学会発表
 1. 中山俊憲 免疫システム、その統御による免疫治療の開発研究 特別講演 第9回 Cardiovascular Frontier Conference (CFC), 東京, 4月4日, 2009
 2. Nakayama, T., Hirahara, K. and Yamashita, M.: ROG, repressor of GATA, regulates Th2-driven allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness. 96th Annual Meeting the American Association of Immunologists Immunology 2009 (Seattle, USA), May 8-12, 2009.
 3. 中山俊憲 免疫・アレルギー疾患克服のためのトランスレーショナルリサーチ 平成21年度第1回ちばバイオテクノロジーセミナー, 千葉, 7月13日, 2009.
 4. 中山俊憲 CD4陽性T細胞の機能分化: 機能獲得と維持のメカニズム 特別講演 第21回日本比較免疫学会学術集会, 藤沢, 8月3-5日, 2009.
 5. Nakayama, T. and Yamashita, M.: Bmi1 regulates memory CD4 T cell survival via repression of the Noxa gene. Keystone Symposia 2009 (Colorado, USA), February 8-13, 2009.
 6. Tokoyoda, K., Nakayama, T. and Radbruch, A.:

- rofessional memory CD4⁺ T lymphocytes reside and rest in the bone marrow. The 5th International Worksho of Kyoto T Cell Conference (Kyoto, Jaan), June 1-4, 2009.
7. Nakayama, T., Yamashita, M., Hosokawa, H. and Iwamura, C.: Regulation of memory Th cell survival and function by the olycomb and trithorax grou gene roducts. The 5th International Worksho of Kyoto T Cell Conference (Kyoto, Jaan), June 1-4, 2009.
 8. 長谷川明洋, 中山俊憲, 白井睦訓 喘息肺への T リンパ球細胞浸潤のイメージング 第 18 回日本バイオイメージング学会学術集会, 岡山, 9 月 3-5 日, 2009.
 9. Nakayama, T. and Yamashita, M.: Bmi1 regulates memory Th2 cell survival via reression of the noxa gene. Euroean Journal of Immunology (Berlin, Germany), Setember 13-16, 2009.
 10. 中山俊憲 アレルギー-疾患の合併をどのように考えるか? 基礎研究からの考察 第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会 シンポジウム, 秋田, 10 月 29-31 日, 2009.
 11. 中山俊憲 ヒト免疫疾患におけるメモリー T 細胞の役割: 新展開 第 37 回日本臨床免疫学会総会 シンポジウム, 東京, 11 月 13-15 日, 2009.
 12. Yamashita, M., Kuwahara, M. and Nakayama, T.: Regulation of GATA3-induced immune resones by the transcrition factor Sox4. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 シンポジウム, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 13. Tokoyoda, K., Hanazawa, A., Radbruch, A. and Nakayama, T.: rofessional memory CD4 T lymphocytes reside and rest in bone marrow. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会 シンポジウム, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 14. 山下潤二, 岩村千秋, 佐々木哲也, 金子健二, 山下政克, 中山俊憲 アポリポタンパク A-II は CD4 T 細胞の活性化を抑制することで ConA 誘導肝炎に対し保護効果を示す / AolioroteinA-II rotects from ConcanavalinA-induced hepatitis through the inhibition of CD4 T cell activation. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 15. Tokoyoda, K., Hanazawa, A., Fukasawa, T., Radbruch, A. and Nakayama, T.: 記憶ヘルパー T リンパ球は骨髄に定着している /rofessional memory CD4 T lymphocytes referentially reside and rest in the bone marrow. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 16. Kuwahara, M., Yamashita, M., Tofukuji, S., Shinoda, K., Onodera, A., Suzuki, J., Iwamura, C. and Nakayama, T.: Sox4 は GATA3 によって誘導される Th2 細胞分化および Th2 型炎症反応を制御する /Sox4 regulates GATA3-induced Th2 cell differentiation and Th2-deendent inflammatory resones. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 17. Hosokawa, H., Kitajima, M., Ito, T., Horiuchi, S., Sasaki, T., Nishimura, T., Yamashita, M. and Nakayama, T.: MLL による腫瘍特異的メモリー-Th2 細胞の維持 /Transcrition factor MLL regulates IL-4 mediated anti-tumor resonse by tumor secific memory Th2 cells. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 18. Hasegawa, A., Nakayama, T. and Shirai, M.: 腸炎の発症における CD69 分子の役割 /Crucial role for CD69 in the athogenesis of exerimental colitis. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 19. Okawa, T., Inamine, A., Horiguchi, S., Nakayama, T. and Okamoto, Y.: Lactobacillus aracasei KW3110 刺激により活性化された樹状細胞はアレルギー-性鼻炎炎症を抑制する /DC stimulated by Lactobacillus aracasei KW3110, inhibits local inflammation of allergic rhinitis. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 20. 岩村千秋, 北島雅之, 篠田健太, 渡邊友紀子, 平崎能郎, 遠藤裕介, 鈴木茜, 中山俊憲 Zf35 欠損マウスにおける Th2 細胞分化とアレルギー-性気道炎症反応の亢進 /Enhanced Th2 cell differentiation and allergen-induced airway inflammation in Zf35-deficient mice. 第 39 回日本免疫学会総会・学術集会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 21. 山下政克, 桑原誠, 東福寺聡一, 中山俊憲 Regulation of GATA3-induced immune resones by the transcrition factor Sox4. 第 32 回日本分子生物学会年会, 大阪, 12 月 2-4 日, 2009.
 22. 中山俊憲 免疫記憶, ポリコムとトライソラックスによる制御 第 4 回日本エピジェネティクス研究会, 米子, 5 月 28-29 日, 2011
 23. 小野寺淳, 山下政克, 遠藤裕介, 桑原誠, 東福寺聡一, 細川裕之, 堀内周, 渡邊友紀子, 金井昭教, 鈴木穰, 中山俊憲 STAT6 によって誘導されるポリコムとトライソラックスの置換反応 第 4 回日本エピジェネティクス研究会, 米子, 5 月 28-29 日, 2011
 24. 遠藤裕介, 鈴木茜, 岩村千秋, 菅谷薫子, 山下政克, 中山俊憲 Eomesodermin は GATA3 の転写活性化を阻害することでメモリー-Th2 細胞の CD62L^{low}CXCR3^{low} の分画における IL-5 の発現制御を行っている 第 4 回日本エピジェネティクス研究会, 米子, 5 月 28-29 日, 2011
 25. 鈴木茜, 中山俊憲 気道炎症における Ring1B による Bim 依存的な Th2 細胞死抑制制御 第 19 回日本 Cell Death 学会学術集会, 名古屋, 7 月 31 日-8 月 1 日, 2010.
 26. Kuwahara, M., Yamashita, M., Shinoda, K., Tofukuji, S., Onodera, A., Suzuki, J., Iwamura,

- C. and **Nakayama, T.**: Sox4 acts as a downstream target of TGF-beta and suppresses GATA3-induced immune responses. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
27. Suzuki, A., Iwamura, C., Shinoda, K., Tumes, D. J., Hosokawa, H., Endo, Y., Horiuchi, S., Tokoyoda, K. and **Nakayama, T.**: Polycomb group gene product Ring1B regulates Th2-driven airway inflammation through the inhibition of Bim-mediated apoptosis of effector Th2 cells in the lung. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 28. Hirasaki, Y., Iwamura, C., Yamashita, M., Ito, T., Kitajima, M., Shinoda, K., Namiki, T., Terasawa, K. and **Nakayama, T.**: Receptor of GATA negatively regulates the induction of contact hypersensitivity via Th2-induced mast cell degranulation. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 29. Tokoyoda, K., Shinoda, K., Hanazawa, A., Zehentmeier, S., Fukasawa, T., Radbruch, A. and **Nakayama, T.**: Memory CD4 T lymphocytes reside and rest in the bone marrow. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 30. Endo, Y., Suzuki, A., Tumes, D. J., Yamashita, M. and **Nakayama, T.**: Generation and maintenance of memory Th1/Th2 cell identity. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 31. Iwamura, C., Hosokawa, H., Hasegawa, A. and **Nakayama, T.**: CD69 controls the pathogenesis of allergic airway inflammation. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 32. Hasegawa, A., Shirai, M. and **Nakayama, T.**: Real-time cellular imaging of T lymphocyte accumulation in a mouse asthma model. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 33. Shinoda, K., Iwamura, C., Yoshimura, M., Watanabe, Y., Obata, A. and **Nakayama, T.**: Naringenin suppresses allergic asthma by inhibiting the Th2 function of CD4 T cells. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 34. Hosokawa, H., Kitajima, M., Iwamura, C., Horiuchi, S., Sasaki, T., Khaedir, Y., Yamashita, M. and **Nakayama, T.**: Enhanced Th2 cell differentiation and allergen-induced airway inflammation in Zf35-deficient mice. 14th International Congress of Immunology, Kobe, August 22-27, 2010.
 35. **Nakayama, T.**: CD4 T cell memory controlled by polycomb and Trithorax molecules. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, 招待講演, Awaji, September 7-10, 2010.
 36. 長谷川明洋, 中山俊憲, 白井睦訓 喘息肺での浸潤リンパ球のリアルタイムイメージング 第19回日本バイオイメージング学会学術集会, 横浜, 9月9-11日, 2010
 37. Nakayama, T., and Onodera, A.: Epigenetic control of memory Th2 cell function via Polycomb and Trithorax molecules. EUThyme-Rolduc Meeting,, Leeuwenhorst, NL, May 21-24 2011.
 38. 東福寺聡一, 桑原誠, 鈴木淳平, 中山俊憲, 山下政克 TGFβはIL-4をTh1細胞分化誘導因子へと変換する 第21回 Kyoto T Cell Conference, 京都, 6月10-11日, 2011.
 39. 桑原誠, 岩村千秋, 篠田健太, 東福寺聡一, 鈴木淳平, 中山俊憲, 山下政克 HMG box型転写因子 Sox4はTGFβ刺激で誘導され, Th2細胞分化を抑制する 第21回 Kyoto T Cell Conference, 京都, 6月10-11日, 2011.
 40. 遠藤裕介, 小野寺淳, 細川裕之, 中山俊憲 Eomesodermin controls IL-5 production in memory Th2 cells through the inhibition of GATA3 activity 第21回 Kyoto T Cell Conference 京都, 6月10-11日, 2011.
 41. 岩村千秋, 篠田健太, 花澤麻美, 中山俊憲 Selective expansion and functional modulation of memory Th2 cells by activated NKT cells *in vivo* 第21回 Kyoto T Cell Conference 京都, 6月10-11日, 2011.
 42. Nakayama, T., and Onodera, A.: Regulation of memory Th2 cell function and allergic airway inflammation via polycomb and trithorax molecules. 30th Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, Turkey, Istanbul, June 11-15, 2011.
 43. Nakayama, T.: Epigenetic regulation of GATA3 expression and its target genes in Th2 cells. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Diseases, CA, USA, June 20-22, 2011.
 44. 中山俊憲, 本橋新一郎 NKT細胞免疫系をターゲットにしたがんの免疫細胞治療 第15回日本がん免疫学会総会, 大阪, 6月30日-7月1日, 2011.
 45. Ishibashi, F., Motohashi, S., Taniguchi, M., Yoshino, I. and Nakayama, T.: Trans-bronchial intratumoral injection of aGalCer-pulsed APCs in patients with advanced or recurrent lung cancer. 第15回日本がん免疫学会総会, 大阪, 6月30日-7月1日, 2011.
 46. Nakayama, T. and Iwamura, C.: NKT cell-mediated regulation of antigen-specific memory Th2 cell function. 6th International Symposium on CD1 and NKT Cells, Chicago, Sep 23-27 2011.
 47. Motohashi, S., Ishibashi, F., Taniguchi, M., Yoshino, I. and Nakayama, T.: NKT cell-based Immunotherapy for non-small cell lung cancer. 6th International Symposium on CD1 and NKT

- Cells, Chicago, Sep 23-27 2011.
48. 櫻井利興, 稲嶺絢子, 櫻井大樹, 飯沼智久, 米倉修二, 石井保之, 中山俊憲, 岡本美孝 α -GalCer-Ag DC の口腔粘膜下投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 11 月 10-12 日, 2011.
 49. 高橋健太郎, 廣瀬晃一, 川島沙紀, 丹羽祐輔, 若新英史, 岩田有史, 小林芳久, 常世田好司, 中山俊憲, 谷口正実, 秋山一男 IL-22 は気道上皮細胞による IL-25 産生を抑制し, アレルギー性気道炎症を制御する 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 11 月 10-12 日, 2011.
 50. 飯沼智久, 稲嶺絢子, 山本陸三朗, 櫻井大樹, 米倉修二, 櫻井利興, 中山俊憲, 岡本美孝 好酸球性副鼻腔炎鼻茸に浸潤するリンパ球の機能解析 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 11 月 10-12 日, 2011.
 51. 櫻井大樹, 米倉修二, 山本陸三朗, 稲嶺絢子, 中山俊憲, 岡本美孝 アレルギー性鼻炎に対する免疫療法, 最新の知見と展望 第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 11 月 10-12 日, 2011.
 52. Tofukuji, S., Kuwahara, M., Suzuki, J., Ohara, O., Nakayama, T. and Yamashita, M.: TGF β は IL-4 を Th1 細胞分化誘導因子へと変換する/ TGF β converts IL-4 into a Th1 cell inducer. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 53. 堀内周, 小野寺淳, 細川裕之, 渡邊友紀子, 中山俊憲 GATA3 ChIP-sequence 解析を用いた Th2 特異的遺伝子の転写調節機構の解明/ Genome-wide analysis reveals unique regulation of transcription of Th2-specific genes by GATA3. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 54. Onodera, A., Yamashita, M., Endo, Y., Kuwahara, M., Tofukuji, S., Hosokawa, H., Horiuchi, S., Watanabe, Y. and Nakayama, T.: STAT6 によって誘導されるポリコムとトライソラックスの置換反応/ STAT6-mediated displacement of Polycomb by Trithorax complex establishes long-term maintenance of GATA3 expression in Th2 cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 55. Kuwahara, M., Iwamura, C., Shinoda, K., Tofukuji, S., Suzuki, J., Nakayama, T. and Yamashita, M.: Sox4 は TGF β により誘導され, Th2 型免疫反応を抑制する/ Sox4 acts as a downstream target of TGF β and suppresses Th2 type immune responses. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 56. Suzuki, J., Tofukuji, S., Kuwahara, M., Imamura, M., Nakayama, T., Ohara, O., Kato, F. and Yamashita, M.: Discovery of SH-2251 as a novel site-specific inhibitor for chromatin remodeling at the *Il-5* gene locus. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 57. Phung, T. T. B., Sugamata, R., Uno, K., Ozato, K., Kawachi, S., Nakayama, T., Nguyen, T. L. and Suzuki, K.: MPO と NS-1 によるインフルエンザ感染誘導によるサイトカイン・ケモカイン発現の調節/ MPO and NS-1 modulate cytokines/chemokines induced by influenza viral infection to A549 cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 58. Satoh, M., Eshima, K., Nakayama, T., Taniguchi, M., Ishimori, N., and Iwabuchi, K.: Type II NKT 細胞は食事誘導性肥満を調節する/ Type II NKT cells operate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation and steatohepatitis. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 59. 横田雅也, 鈴木浩太郎, 中込大樹, 岩田有史, 常世田好司, 中山俊憲, 上阪等, 中島裕史 多発性筋炎マウスモデルにおける肥満細胞の役割の解析/ Crucial roles of mast cells in a murine model of polymyositis. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 60. Hirasaki, Y., Iwamura, C., Yamashita, M., Ito, T., Shinoda, K. and Nakayama, T.: ROG は Th2 による肥満細胞の脱顆粒を制御する事で接触性皮膚炎を抑制する/ Repressor of GATA negatively regulates the induction of contact hypersensitivity via Th2-induced mast cell degranulation. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 61. Yamashita, J., Iwamura, C., Hosokawa, H., Sasaki, T., Tumes, D., Motohashi, S. and Nakayama, T.: マウス Schnurri-2 は NK 細胞の機能とリンパ腫の発症を制御する/ Murine Schnurri-2 controls Natural Killer cell function and lymphoma development. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 62. Ishibashi, F., Motohashi, S., Taniguchi, M., Yoshino, I. and Nakayama, T.: 進行期および再発非小細胞肺癌に対する α -GalCer パルス抗原提示細胞の局所投与療法-第 I 相試験-/ A phase I study of loco-regional immunotherapy by trans-bronchial injection of α -Galactosyl-ceramide - pulsed antigen presenting cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
 63. 佐々原剛, 山崎一樹, 本橋新一郎, 岡本美孝, 中山俊憲 頭頸部癌患者に対する α -GalCer パルス樹状細胞の投与部位と移動部位に関する検討/ Migration and immunological reaction after administration of α -GalCer pulsed antigen presenting cells into submucosa of patients with head and neck cancer. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.

- 2011.
64. Ito, T., Kitajima, M., Tumes, J. D., Endo, Y., Onodera, A., Hashimoto, K., Motohashi, S., Yamashita, M., Nishimura, T. and Nakayama, T.: メモリ-Th2 細胞は NK 細胞を活性化し抗腫瘍効果を持続させる/ Memory type 2 helper T cells induce long-lasting anti-tumor immunity by activating natural killer cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
65. 岩村千秋, 篠田健太, 高橋克己, 中山俊憲 活性化 NKT 細胞によるメモリ-Th2 細胞の増加と機能変化/ Selective expansion and functional modulation of memory Th2 cells by activated NKT cells in vivo. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
66. Hasegawa, A., and Nakayama, T.: 腸炎の発症における CD69 分子の役割/ Crucial role for CD69 in the pathogenesis of DSS-induced colitis. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
67. Tokoyoda, K., Shinoda, K., Hanazawa, A., Hayashizaki, K., Radbruch, A. and Nakayama, T.: 骨髄における T ヘルパー記憶の成立/ Establishment of T helper memory in bone marrow. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
68. Sakurai, T., Inamine, A., Sakurai, D., Inuma, T., Ishii, Y., Nakayama, T. and Okamoto, Y.: α -GalCer パルス DC の口腔粘膜投与におけるアレルギー性鼻炎炎症の抑制機序の解明/ Oral Submucosal administration of α -GalCer pulsed DCs inhibits local inflammation of allergic rhinitis. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
69. 志賀由佳, 菅又龍一, 長尾朋和, 岩村千秋, 川上和義, 河内正治, 中山俊憲, 鈴木和男 VILI (Ventilator-Induced Lung Injury) model における NKT 細胞の関与と役割/ Protective role of NKT cells against ventilator-induced lung injury. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
70. Yamamoto, N., DelaCruz, C., Takahashi, M., Fujita, T., Hosokawa, H., Nakayama, T., Akahori, Y., Yamamoto, H., Kawakami, K., Askenase, W. P. and Kanemitsu, K.: 肺炎球菌の血流感染及び肺炎における, IL-13 による宿主防御の役割/ Protective role of IL-13 in sepsis and respiratory infection against *S. pneumoniae*. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
71. 鈴木浩也, 濱野慶朋, 中山俊憲, 鈴木和男 MPO-ANCA 関連血管炎における新規自己抗体(抗モエシン抗体)/A novel anti-neutrophil antibody in serum of patients with MPO-ANCA AAV. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
72. Inuma, T., Inamine, A., Sakurai, T., Sakurai, D., Yamamoto, H., Nakayama, T. and Okamoto, Y.: 好酸球性慢性鼻副鼻腔炎に伴う鼻茸の病理学的形成機序の解明/Pathological mechanism of eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 幕張, 11 月 27-29 日, 2011.
73. Yamashita, M., Kuwahara, M., Suzuki, J., Nakayama, T. and Tofukuji, S.: TGF β converts an IL-4 function into a Th1 cell inducer. 第 34 回日本分子生物学会年会, 横浜, 12 月 13-16 日, 2011.
74. Matsunaga, S., Takahashi, K., Taguchi, J., Sakuramoto, M., Nakayama, T. and Hashimoto, K.: The functional analysis of Exocyst complex subunit Sec8 on antigen presenting cells. 第 34 回日本分子生物学会年会横浜, 12 月 13-16 日, 2011.
75. Hasegawa, A., Shirai, M. and Nakayama, T.: Real-time cellular imaging of T lymphocyte accumulation in a mouse asthma model. 喘息肺での浸潤リンパ球のリアルタイムイメージング 第 85 回日本細菌学会総会, 長崎, 3 月 28 日, 2012.

H.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

- 出願日:平成 22 年 7 月 13 日,「劇症型炎症の予防および/または治療剤」, 発明者:鈴木和男(国立大学法人千葉大学), 中山俊憲(国立大学法人千葉大学), 長尾朋和(国立大学法人千葉大学), 菅又龍一(国立大学法人千葉大学), 大村智(学校法人北里研究所内), 砂塚敏明(学校法人北里研究所内), 廣瀬友靖(学校法人北里研究所内), 菅原章公(学校法人北里研究所内), 出願人: 国立大学法人千葉大学, 特願 2010-159031 号
- 出願日:平成 22 年 8 月 27 日,「乳酸菌および抗原物質を含み, 口腔内に投与されることを特徴とする抗アレルギー剤」, 稲嶺絢子(国立大学法人千葉大学), 岡本美孝(国立大学法人千葉大学), 堀口茂俊(国立大学法人千葉大学), 中山俊憲(国立大学法人千葉大学), 出願人: 国立大学法人千葉大学, 特願 2010-190842 号
- 米国レギュラー出願:出願日:2010 年 11 月 12 日,「INHIBITION OF CD69 FOR TREATMENT OF INFRAMMATORY CONDITIONS」, 中山俊憲(国立大学法人千葉大学), 長谷川明洋(国立大学法人山口大学), 白井睦訓(国立大学法人山口大学), 出願人: 国立大学法人千葉大学・国立大学法人山口大学, US12/945153 号
- 登録日:平成 23 年 11 月 18 日, 登録番号特許第 4863452 号, 出願日:平成 18 年 3 月 30 日, 「ヒト Th1/Th2 分化誘導系, 及びその用途」, 発明者: 中山俊憲(千葉大学・教授)・山下政克(千葉大学・助教授), 古閑比佐志((財)かずさディー・エヌ・エー研究所・ゲノム医学研

研究室室長), 出願人: 国立大学法人千葉大学, (財)かずさディー・エヌ・エー研究所, 出願番号: 特願 2006-093086 号

- 出願日: 平成 23 年 3 月 30 日, 「花粉症ワクチンの治療効果を予測するバイオマーカー」, 発明者: 岡本美孝 (国立大学法人千葉大学大学院), 稲峰絢子 (国立大学法人千葉大学大学院), 堀口茂俊 (国立大学法人千葉大学大学院), 櫻井大樹 (国立大学法人千葉大学大学院), 中山俊憲 (国立大学法人千葉大学大学院), 野中謙 (財団法人かずさディー・エヌ・エー研

究所), 山下政克 (財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所), 小原收 (財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所), 出願人: 国立大学法人千葉大学, 財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所, 特願 2011-76653 号

- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他

花粉飛散室を用いた花粉誘発症状評価とヒノキ花粉曝露の検討

研究分担者 櫻井 大樹 千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 講師
研究協力者
堀口 茂俊 飯田病院 耳鼻咽喉科・アレルギー科
米倉 修二 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科学 助教
山本陸三朗 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科学 医員
横田 国彦 ウェザー・サービス株式会社

研究要旨

花粉症の治療開発研究を加速するために、花粉飛散室を用いた花粉誘発症状の評価法の確立と意義について検討を行った。千葉大学に設置された花粉飛散室は高精度に花粉飛散量をコントロールすることが可能であり、治療開発研究の加速が期待出来る。花粉飛散室での花粉曝露により、即時相および遅発症状がみられ、自然飛散期の症状と相関がみられることから、花粉飛散室での花粉曝露は自然飛散による症状発現を強く反映するものと考えられた。花粉飛散室を用いることにより、これまでスギ花粉など他の花粉症との重複から単独での症状経過の観察が困難であったヒノキ花粉に対し詳細な検討が可能となった。ヒノキ花粉はスギ花粉と共通抗原がみられるとはいえ、ヒノキ花粉飛散試験による検討からヒノキ花粉に対する症状はスギ花粉による症状とは明らかな違いがみられた。またスギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法は、スギ花粉に対する効果とヒノキ花粉に対する効果とに違いが認められた。

A. 研究目的

千葉大学医学部キャンパス内に設置された亥鼻イノベーションプラザに、国内最大で高精度の抗原飛散室が設置された。花粉飛散室の利用により季節にとらわれず症状および治療の有効性を評価することで、臨床研究の加速が期待出来る。この花粉飛散室の有用性を明らかにするため、スギおよびヒノキ花粉曝露による症状の解析を行った。とくにヒノキ花粉は、スギ花粉と共通抗原を持ち、西日本ではヒノキの植生面積がスギを上回っており今後の花粉飛散の増加が危惧されている。このヒノキ花粉は自然飛散期に他の花粉飛散が重複するため、そのみが引き起こす症状についてこれまで評価が困難であったが、花粉飛散室を用いることによりヒノキ花粉単独で引き起こされる症状の検討も可能となり、花粉飛散室を用いヒノキ花粉曝露による症状発現の特徴について検討を行った。さらに、スギ特異的舌下免疫療法がヒノキ花粉症に対し有効かどうかについて、花粉飛散室でのヒノキ花粉曝露により誘発される症状の検討を行った。

B. 研究方法

花粉はピストン法により飛散室の3ヵ所から均一に噴霧され、床に均一に設置された吸入口で吸入する方式で飛散された。被験者は帽子、専用ガウンを着て飛散曝露室に入り3時間花粉曝露を受け、その間のくしゃみ回数、鼻かみ回数、鼻閉の

強さなどを30分毎に専用のPHSにて管理室に報告した。花粉飛散は8,000個/m³とした。また、曝露後の症状をアレルギー日記へ記載した。

- (1) 誘発症状の再現性試験：スギ花粉症の被験者に1週間空けて2回飛散室での症状誘発を行い、個人内再現性を検討した。
- (2) 誘発症状と自然飛散期症状との関連：スギ花粉飛散期に症状日記を記入した患者を対象に、スギ花粉曝露を行い、曝露室内の症状と曝露後の症状について、2009年の症状日記と比較検討を行った。また2008年まで舌下免疫療法の臨床試験に参加したスギ花粉症患者に対しスギ花粉曝露試験を行い自然飛散期症状との比較を行った。
- (3) 即時相と遅発相の検討：飛散室内での症状と退室後の遅発症状との関連について検討を行い、H1受容体拮抗薬と鼻局所ステロイド薬の影響について解析した。
- (4) スギ花粉エキスをを用いて舌下免疫療法を行ったスギ花粉症患者に、ヒノキ花粉曝露試験を行い2010年のスギ花粉飛散期症状との関連も含めて症状の解析を行った。
- (5) 2008年から2010年にスギ花粉エキスをを用いた舌下免疫療法を行った参加者で、ヒノキ花粉症も有する患者を対象に、ヒノキ花粉曝露試験を行い、誘発される症状について検討を

行った。

- (6) ヒノキ花粉曝露による症状と、ヒノキの RAST 値、プリックテスト、皮内テスト、抗原ディスクを用いた症状誘発試験の結果との関連について検討を行った。

(倫理面への配慮)

本臨床試験を遂行するにあたり、花粉飛散室で花粉曝露の試験を受ける患者からは十分に症状発現の可能性が高いことを説明し、研究の意義、負担も含めて了解を得て、文書による同意を確認してから行った。退室後の花粉の再曝露を防ぐため、飛散室では使い捨ての上・下衣、帽子、靴カバーを着用し、退室後にはエアシャワーを使用して花粉の持ち帰りを防いだ。これらの検討は千葉大学内の倫理委員会に申請し、許可を得て行われた。

C. 研究結果

- (1) 飛散室により誘発される症状、くしゃみ、鼻水、鼻閉からなる症状の病型、症状の発生頻度、重症度について、個人内での再現性が高かった。
- (2) 飛散室内での誘発症状は自然花粉飛散初期 2 週間の症状スコア平均と高い相関がみられた。飛散室内での症状と曝露後の症状を総合した症状スコアは自然花粉飛散期全体の平均スコアと有意に相関した。
- (3) 曝露室内での即時症状と、退室後の遅発症状の強さとの関連は明らかではなかった。遅発相では鼻閉のみならずくしゃみや鼻水もみられ、曝露後 3 日程度症状が続く患者が多くみられた。H1 受容体拮抗薬は即時相の症状抑制に強く作用したが、遅発相に対しては弱く、鼻局所ステロイド薬は遅発症状の抑制効果が強かった。
- (4) ヒノキ花粉曝露による症状は同じ濃度のスギ花粉曝露に比較して軽度であった。ヒノキ花粉に対する IgE 抗体陽性者は陰性者に比較して症状の強さの差は明らかではなかった。
- (5) ヒノキ花粉曝露による総鼻症状スコアは、スギ舌下免疫療法群で低下傾向はあるものの、プラセボ群と比較し有意差は認めなかった。各鼻症状スコアでもスギ舌下免疫療法群とプラセボ群に有意差は認められなかった。
- (6) スギ花粉症とヒノキ花粉症を有する患者において、ヒノキ RAST 値が陰性偽陽性でも、ほとんどの症例でヒノキ花粉プリックテストもしくは皮内テストに陽性を示した。

D. 考察

飛散室での症状は 2-3 日続き、鼻閉のみならずくしゃみも出現することから、抗原ディスクを用いた誘発症状とは機序が異なると考えられたが、花粉飛散室の利用により、より自然曝露に近い形で遅発相の症状も含めた評価が可能であると考えられた。また、1 週間の期間において曝露試験を繰り返してもプライミング効果がみられず、飛散室を使った検討はクロスオーバー試験に適していると考えられた。

花粉飛散室を退室後の症状はいわゆる遅発症状と考えられ、実際に抗炎症作用を有する局所ステロイド剤が強く症状の抑制に作用している。このような遅発症状の誘導と、自然飛散期症状との有意な相関から、花粉飛散室での花粉曝露は従来の抗原誘発試験とは異なり、花粉自然飛散期にみられる症状をより強く反映しているものと考えられる。花粉飛散室を用いた症状評価の意義が確認され、新治療の開発や治療評価研究など有効な活用が期待できる。

スギ花粉に続いて飛散するヒノキ花粉に対するスギ舌下免疫療法が有効かどうかは大きな課題であるが、スギ花粉抗原とヒノキ花粉抗原の相同性から、スギ花粉エキスによる舌下免疫療法はヒノキ花粉症にも効果が期待されているが、ヒノキ花粉症に対しては効果が劣る可能性が示唆された。

E 結論

多人数を対象に均一条件での曝露試験を随時行うことが可能な高精度の飛散室を用いることで、治療開発研究の加速が期待出来る。花粉飛散室での花粉曝露により、即時相のみではなく強い遅発症状がみられること、誘発される症状スコアは自然飛散期の症状と相関がみられることから、花粉飛散室での花粉曝露は自然飛散による症状発現を強く反映するものと考えられる。花粉飛散室を用いることにより、これまで他の花粉症との重複から単独での症状経過の観察が困難であったヒノキ花粉に対し詳細な検討が可能となった。スギ花粉舌下免疫療法施行者でヒノキ花粉症を有する患者に対するヒノキ花粉曝露試験から、ヒノキ花粉症に対しては効果が劣ることが示唆された。このことからヒノキ花粉に対する特異的な治療の開発も今後の課題と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Muradil, M., Okamoto, Y., Yonekura, S., Chazono,

H., Hisamitsu, M., Horiguchi, S., Hanazawa, T., Takahashi, Y., Yokota, K., Okumura, S.: Reevaluation of pollen quantitation by an automatic pollen counter. Allergy Asthma Proc. 31; 422- 427. 2010.

2. 学会発表

1. 山本陸三朗、櫻井大樹、米倉修二、稲嶺絢子、櫻井利興、飯沼智久、岡本美孝、安枝浩、第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会；花粉飛散室でのヒノキ花粉曝露による症状発現の検討、大津 2012/2/17
2. 山本陸三朗、櫻井大樹、米倉修二、櫻井利興、飯沼智久、稲嶺絢子、岡本美孝、安枝浩、第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会；花粉飛散室でのヒノキ花粉曝露による症状発現の検討、東京 2011/11/11
3. 櫻井大樹、米倉修二、山本陸三朗、稲嶺絢子、中山俊憲、岡本美孝、シンポジウム第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会；免疫療法その機序と効果、アレルギー性鼻炎に対する免疫療法、最新の知見と展望、東京 2011/11/12
4. 堀口茂俊、シンポジウム、第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会、花粉曝露室の活用、京都、5/8-10. 2010.
5. 堀口茂俊、米倉修二、藤村孝志、花澤豊行、岡本美孝、横田匡彦。花粉曝露室を用いた臨床検討の意義に関する検討。第 21 回日本アレルギー学会春期臨床大会。2009 年 6 月。岐阜。

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

組換え Cry j 1/2 融合タンパク質の舌下免疫療法への応用 に関する研究

研究分担者 石井保之

独立行政法人理化学研究所免疫・アレルギー科
学総合研究センターワクチンデザイン研究チー
ム チームリーダー

研究要旨

スギ花粉症の舌下免疫療法に利用できる新規減感作抗原の作製を行った。これまでに、PEG 化組換え Cry j 1/2 融合蛋白質、組換え Cry j 1/2 融合蛋白質封入 α -GalCer リポソーム、組換え T 細胞エピトープ連結ポリペプチド (CS-712) を内包した α -GalCer リポソームの製造に成功した。スギ花粉感作マウスへの投与実験の結果、全ての新規減感作抗原は全身性アナフィラキシーを誘発しない高い安全性と、スギ特異的 IgE 抗体産生を抑制する有効性を示した。さらに CS-712 を封入した α -GalCer リポソーム投与マウスでは、IgE 抗体産生抑制と相関して Treg 細胞数の増加が認められた。今後、Treg 細胞エピトープ連結ポリペプチドと α -GalCer リポソームを組み合わせたワクチンが舌下免疫療法に有効であることが示唆された。

A. 研究目的

スギ花粉の主要抗原である Cry j 1 と Cry j 2 を遺伝子工学技術で連結した組換え Cry j 1/2 融合タンパク質の実用化を目指した研究を実施する。

B. 研究方法

スギ花粉症のアレルゲン免疫療法に利用する人工アレルゲンをデザインする場合には、全身性のアナフィラキシーを誘発しない安全性とアレルギー応答を抑制する有効性が要求される。本研究では以下の3つの人工アレルゲンを製造し、安全性と有効性の評価を行った。

1) PEG 化組換え Cry j 1/2 融合蛋白質

組換え Cry j 1/2 融合タンパク質は、Cry j 1 領域と Cry j 2 領域を直に近接させた融合蛋白質として発現させるため、それぞれが本来持っている天然型の立体構造を形成できない。その結果、タンパク質の立体構造を主に認識する IgE 抗体には認識されず、アナフィラキシーの危険性が軽減できる。さらに、我々は、大腸菌発現系を用いた発現系において、組換え Cry j 1/2 融合タンパク質を不溶性画分に生産させた後、ポリエチレングリコール (PEG) で可溶化する手法を考案した。

2) 組換え Cry j 1/2 融合蛋白質を内包した α -GalCer リポソーム

α -GalCer はナチュラル・キラー T (NKT) 細胞を活性化するリガンドである。 α -GalCer リポソーム製剤は、NKT 細胞の免疫抑制作用を引き出すことが知られている。組換え Cry j 1/2 融合蛋白質をリポソーム内腔に封入することにより、全身投与後にアナフィラキシーを誘発しない製剤とすることができる。

3) 組換え T 細胞エピトープ連結ポリペプチド (CS-712) を内包した α -GalCer リポソーム

Cry j 1 と Cry j 2 の全蛋白質領域の中から、スギ花粉症患者末梢血 T 細胞が反応するエピトープ配列を決定し、それらを連結させたポリペプチドを大腸菌生産系で組換え体として製造する。

(倫理面への配慮)

スギ花粉症患者血清を使う研究計画について、理研横浜研究所の倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

【安全性】

PEG 化組換え Cry j 1/2 融合蛋白質とスギ花粉症患者 IgE 抗体との結合能を測定した。抗ヒト IgE モノクローナル抗体を固相化した 96 穴マイクロタイタープレートに、任意に希釈したスギ花粉症患者血清約 100 検体を添加し、血清中総 IgE を結合させた。バッファーで洗浄した後、

天然由来のビオチン化精製天然 Cry j 1 蛋白質または PEG 化組換え Cry j 1/2 融合蛋白質を添加し、インキュベートした。洗浄後、その結果、大多数の検体中 IgE 抗体に対して、スギ花粉由来天然型 Cry j 1 は強く結合したが、非修飾組換え Cry j 1/2 融合蛋白質の結合能は低く、さらに PEG 化組換え Cry j 1/2 融合蛋白質の結合能はほぼ完全に失われていた。よって、PEG 化組換え Cry j 1/2 融合蛋白質は生体内に投与された場合でも IgE 抗体と結合する可能性は低く、その後のアナフィラキシーを誘発する危険性が極めて低いことが予想された。

大腸菌で生産した組換え T 細胞エпитープ連結ポリペプチド (CS-712) 単独の安全性は、臨床試験で証明されていることから、 α -GalCer リポソーム製剤の安全性を CS-712 内に T 細胞エピトープ配列を持つ B10.S マウスを用いて確認した。B10.S マウスに実験開始時 (0 日目) と 14 日目にスギ花粉抗原 Cry j 1 と Cry j 2 を含有する精製抗原 (SBP:Sugi basic proteins 林原研究所製) を水酸化アルミニウムゲル・アジュバントに混合後腹腔内免疫し、28 日目に Cry j 1 特異的 IgE 抗体価の上昇を確認後、 α GC-liposomal CS712 を週 1 回 3 週間各種ルート (静脈内、腹腔内、皮下、経口) で投与したが、アナフィラキシー症状は観察されなかった。

【有効性】

C57BL6 x DBA2 F1 (BDF1) マウスに、水酸化アルミニウムゲル・アジュバントに混合した SBP あるいは組換え Cry j 1/2 融合タンパク質を実験開始時 (0 日目) と 14 日目に腹腔内免疫し、41 日目にそれぞれのマウスに天然型 Cry j 1 あるいは PEG 化組換え Cry j 1/2 融合タンパク質を追加免疫した。さらに、81 日目には、全てのマウスに水酸化アルミニウムゲルに混合した天然型 Cry j 1 を追加免疫した。その結果、28、55、76 日目の天然型 Cry j 1 特異的 IgE 抗体価は、SBP 免疫マウスでは上昇したが、PEG 化組換え Cry j 1/2 融合タンパク質を免疫したマウスでは全く上昇せず、さらに 81 日目の水酸化アルミニウムゲル・アジュバントと天然型 Cry j 1 の免疫に対しても、天然型 Cry j 1 特異的 IgE 抗体の上昇は 95 日目ではほとんど認められなかった。一方、天然型 Cry j 1 特異的 IgG1 や IgG2a 抗体価は、天然型 Cry j 1 免疫マウスと組換え Cry j 1/2 免疫マウスの両方で同様に上昇した。

BDF1 マウスに実験開始時 (0 日目) と 14 日目に SBP を水酸化アルミニウムゲル・アジュバントに混合後腹腔内免疫し、28 日目に Cry j 1 特異

的 IgE 抗体価の上昇を確認後、組み換え Cry j 1/2 融合蛋白質を封入した α -GalCer リポソームを複数回静脈内投与した。SBP 腹腔投与による抗原チャレンジを行い、血中 Cry j 1 特異的 IgE 抗体価を測定した。陰性対照の非投与群では Cry j 1 特異的 IgE 抗体価が 5 倍程度上昇したのに対して、リポソーム化組み換え Cry j 1/2 融合タンパク質を投与した群では、抗原チャレンジ後の Cry j 1 特異的 IgE 抗体価の上昇が有意に抑制されていた。

B10.S マウスに実験開始時 (0 日目) と 14 日目に SBP を水酸化アルミニウムゲル・アジュバントに混合後腹腔内免疫し、28 日目に Cry j 1 特異的 IgE 抗体価の上昇を確認後、 α GC-liposomal CS712 を週 1 回 3 週間各種ルート (静脈内、腹腔内、皮下、経口) で投与した。SBP 腹腔投与による抗原チャレンジを行い、血中 Cry j 1 特異的 IgE 抗体価を測定した。陰性対照の非投与群では Cry j 1 特異的 IgE 抗体価が約 5 倍程度上昇したのに対して、 α GC-liposomal CS712 を静脈内または経口 (高用量) で投与した群では、抗原チャレンジ後の Cry j 1 特異的 IgE 抗体価の上昇が有意に抑制されていた。他の投与ルートにおいても抑制傾向が認められた。IgE 抗体産生抑制効果と Treg 細胞数の変化に相関が認められた。

D. 考察

スギ花粉の主要抗原である Cry j 1 と Cry j 2 蛋白質の成熟領域の全長を結合した組換え融合蛋白質 (分子量は約 75 kDa) は、スギ花粉症患者全ての T 細胞エピトープをコードしていることから、ワクチンの材料としては最適であることが予想された。しかしながら実用化を考えた場合には、医薬品グレードの製造が極めて困難であることも明らかになった。その観点から、ヒトスギ花粉症患者の主要 T 細胞エピトープの連結ポリペプチドは分子量が小さく (10 kDa 前後)、また過去に国内製薬企業が臨床試験を実施した経験があることから、GMP 製造は十分現実味がある。一方では、エピトープが限定されるため、薬効が十分に発揮されない可能性も指摘されている。しかしながら通常、抗原を取り込んだ抗原提示細胞は、すべてのエピトープペプチドを細胞表面上に提示すると考えられるので、それらを認識するヘルパー T 細胞と特定のエピトープ特異的 Treg 細胞が同時に活性化される場合には、Treg 細胞からの抑制性サイトカインによるバイスタンダーなアレルギー抑制効果が期待できる。現在、開発中の α -GalCer リポソームワクチンは、内包する抗原に特異的な制御性 T (Treg) 細胞を誘導する活性

を持つので、主要T細胞エピトープの連結ペプチドをワクチンに内包すれば、エピトープ特異的Treg細胞を誘導することが期待できる。今後は、スギ抗原に加えて、ヒノキ抗原のTregエピトープの解析も実施し、最適な組み合わせのTregエピトープ連結ポリペプチドをデザインすることが重要だと考えられる。

E. 結論

スギ抗原特異的T細胞エピトープ連結ポリペプチドを封入した α GalCerリポソームワクチンを投与したスギ花粉感作マウスにおいて、IgE抗体産生抑制とTreg細胞の増加に相関が認められた。今後、花粉症患者Treg細胞エピトープ連結ポリペプチドを製造し、それを α -GalCerリポソームと組み合わせることにより、春季花粉症の治療用ワクチンを医薬品化できる可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- ・石井保之, アレルギー疾患の予防・治療の展望、生化学, 2009, 81(3): 209-217.
- ・Ishii et al. Application of NKT cells in immunotherapy, Curr immunology Rev, 2010, 6: 109-115.

2. 学会発表

- ・石井保之、第21回 日本アレルギー学会春季臨床大会（平成21年6月4-6日 岐阜）シンポジウム2 –アレルギーの免疫療法と抗体療法「新規ワクチンによるスギ花粉症免疫療法」
- ・Ishii Y, Future perspectives of allergen immunotherapy/immunomodulations-novel mechanisms. 2010 Korea-Japan Joint Symposium, May 2010, Seoul

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

Ⅱ．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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okamoto Y, Horiguchi S, Yonekura S, Yamamoto H, Hanazawa T.	Present situation of cedar pollinosis in Japan and its immune responses	<i>Allergology International</i>	58	152-162	2009
Miki, H. T., Hasegawa, A., Iwamura, C., Shinoda, K., Tofukuji, S., Watanabe, Y., Hosokawa, H., Motohashi, S., Hashimoto, K., Shirai, M., Yamashita, M., and Nakayama, T.	CD69 controls the pathogenesis of allergic airway inflammation.	<i>J. Immunol.</i>	183	8203-8215	2009
Takashi Fujimura, Yoshitaka Okamoto	Antigen-Specific Immunotherapy against Allergic Rhinitis: The State of the Art.	<i>Allergology International</i>	59	21-31	2010
Onodera, A., Yamashita, M., Endo, Y., Kuwahara, M., Tofukuji, S., Hosokawa, H., Kanai, A., Suzuki, Y. and Nakayama, T.	STAT6-mediated displacement of polycomb by trithorax complex establishes long-term maintenance of <i>GATA3</i> expression in T helper type 2 cells.	<i>J. Exp. Med.</i>	207	2493-2506	2010
Iwamura, C. and Nakayama, T.	Role of NKT cells in allergic asthma.	<i>Curr. Opin. Immunol.</i>	22	807-813	2010
Hasegawa, A., Hayashi, K., Kishimoto, H., Yang, M., Tofukuji, S., Suzuki, K., Nakajima, H., Hoffman, R. M., Shirai, M. and Nakayama, T.	Color-coded real-time cellular imaging of T lymphocyte accumulation and focus formation in mouse asthma model.	<i>J Allergy Clin. Immunol.</i>	125	461-468	2010
Tokoyoda, K., Hauser A. E., Nakayama, T. and Radbruch, A.	Organization of immunological memory by bone marrow stroma.	<i>Nat. Rev. Immunol.</i>	10	193-200	2010
Nakayama, T. and Yamashita, M.	The TCR-mediated signaling pathways that control the direction of helper T cell differentiation.	<i>Semin. Immunol.</i>	22	303-309	2010
Yasuyuki, Ishii I., Shinichiro, Motohashi., Kanako, Shimizu., Toshinori Nakayama, Masaru, Taniguchi., Shin-ichiro, Fujii.	Application of NKT Cells in Immunotherapy	<i>Current Immunology</i>	6	109-115	2010
Fujimura, T., Yonekura, S., Horiguchi, S., Taniguchi, Y., Saito, A., Yasueda, H., Inamine, A., Nakayama, T., Takemori, T., Taniguchi, M., Sakaguchi, M., and Okamoto, Y.	Increase of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring or prognostic biomarkers in two-year sublingual immunotherapy (SLIT) for Japanese cedar pollinosis	<i>Clinical Immunology</i>	139	65-74	2011

研究成果の刊行に関する一覧表

Yamashita, J., Iwamura, C., Sasaki, T., Mitsumori, K., Ohshima, K., Hada, K., Hara, N., Takahashi, M., Kaneshiro, Y., Tanaka, H., Kaneko, K., and Nakayama, T.	Apolipoprotein A-II suppressed concanavalin A-induced hepatitis via the inhibition of CD4 T cell function.	<i>J. Immunol.</i>	186	3410-3420	2011
Hirasaki, Y., Iwamura, C., Yamashita, M., Ito, T., Kitajima, M., Shinoda, K., Namiki, T., Terasawa, K., and Nakayama, T.	Repressor of GATA negatively regulates murine contact hypersensitivity through the inhibition of type-2 allergic responses.	<i>Clin. Immunol.</i>	139	267-276	2011
Takahashi, K., Hirose, K., Kawashima, S., Niwa, Y., Wakashin, H., Iwata, A., Tokoyoda, K., Renault, J.-C., Iwamoto, I., Nakayama, T., and Nakajima, H.	IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation.	<i>J. Allergy Clin. Immunol.</i>	128	1067-1076	2011
Endo, Y., Iwamura, C., Kuwahara, M., Suzuki, A., Sugaya, K., Tumes, J. D., Tokoyoda, K., Hosokawa, H., Yamashita, M., and Nakayama, T.	Eomesodermin controls interleukin-5 production in memory T helper 2 cells through inhibition of activity of the transcription factor GATA3.	<i>Immunity</i>	35	733-745	2011
Inamine, A., Sakurai, D., Horiguchi, S., Yonekura, S., Hanazawa, T., Hosokawa, H., Matuura-Suzuki, A., Nakayama, T., Okamoto, Y.	Sublingual administration of <i>Lactobacillus paracasei</i> KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells.	<i>Clinical Immunology.</i>	<i>in press</i>		2012

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別刷

Present Situation of Cedar Pollinosis in Japan and its Immune Responses

Yoshitaka Okamoto, Shigetoshi Horiguchi, Heizaburo Yamamoto,
Syuji Yonekura and Toyoyuki Hanazawa

Allergology International
Vol 58, No 2: 155-162 June 2009

Present Situation of Cedar Pollinosis in Japan and its Immune Responses

Yoshitaka Okamoto¹, Shigetoshi Horiguchi¹, Heizaburo Yamamoto¹, Syuji Yonekura¹ and Toyoyuki Hanazawa¹

ABSTRACT

Recent observations have suggested significant worldwide increase in the prevalence of allergic rhinitis and cedar pollinosis. In Japan, Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) and Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa*) pollens are considered to be the major unique allergens and their extent of dispersal is quite large, traveling more than 100 km and thus causing serious pollinosis. Cedar pollinosis is a typical type 1 allergic disease by an adaptive immune response that occurs through the induction of allergen-specific effector T cells from naïve T cells. We examined the number of Japanese cedar pollen specific memory Th cells in the peripheral blood of the patients and found that the cedar pollen specific IL-4-producing Th2 memory cells increased during the pollen season and decreased during the off-season. However, more than 60% of the cedar-specific memory Th2 cells survived up to 8 months after the pollen season. Natural killer T(NKT) cells represent a unique lymphocyte subpopulation and their activity is not restricted to MHC antigens. NKT cells play an important role in innate immunity, however, the participation in development of allergic rhinitis could not be clarified.

KEY WORDS

cedar pollinosis, cedar specific Th memory cell, epidemiology, natural killer T cell

CEDAR POLLEN

In recent years, many countries have experienced an increase in the prevalence of allergic rhinitis.^{1,2} Dust mite allergen is responsible for at least 90% of cases of perennial allergic rhinitis, while arboreal pollen, including that of cedar and Japanese cypress, is important in Japan.^{3,4} Cedar forest covers nearly 18% of the total land area of Japan, while Japanese cypress is concentrated in the Kanto region and the western part of the country. Both cedar and Japanese cypress produce enormous amounts of pollen. In Japan, pollen counts are typically measured using the gravimetric method with a Durham sampler, in contrast to Western countries in which a Burkard sampler is typically used. In a study in Chiba Prefecture in 2005, the amount of air-borne pollen counted with a Burkard sampler was about 12 times greater than that counted with a Durham sampler.⁵ In addition, distinct from grass pollen, which only spreads less than 100 meters, cedar and cypress pollen travel a long distance and reach major cities, including Tokyo and

Osaka, causing wide-spread pollinosis, although no actual data describing the distance traveled was available. A detailed simulation study considering the results of real-time pollen distributing information was conducted using large computers and Figure 1 shows the source and areas from which the cedar pollen detected at Chiba University Hospital had spread. These dark spots indicate the areas where the cedar pollen originated. Pollens blow to Chiba city from the cedar planting areas of Boso Peninsula, as well as from the north Kanto area, Nikko, Izu Peninsula and Shizuoka Prefecture. This study suggests that cedar pollen actually can travel more than 100 km and cause pollinosis in a large area.

Cedar pollen dispersal precedes Japanese cypress pollen dispersal, and approximately 70% of patients with cedar pollinosis are also allergic to Japanese cypress pollen because of a common antigen.⁶ Dispersal of cedar and Japanese cypress pollen generally exhibits an arch-shaped pattern with time: cedar pollen dispersal starts in early February and reaches a peak between late February and early March, and is fol-

¹Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan.
Correspondence: Yoshitaka Okamoto, MD, PhD, Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-

8670, Japan.
Email: yokamoto@faculty.chiba-u.jp
Received 9 December 2008.
©2009 Japanese Society of Allergology

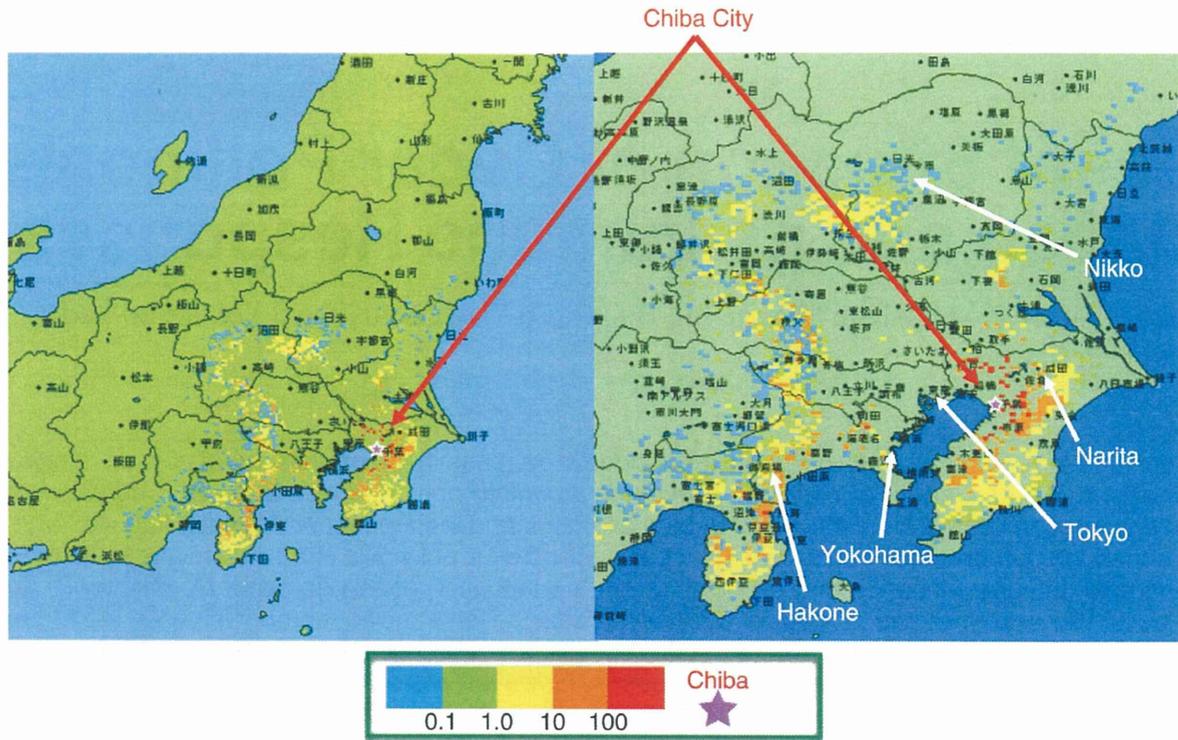


Fig. 1 The source areas from which the cedar pollen detected at Chiba University Hospital spread. This is the computer simulation study done by Mr. Kunihiko Yokota *et al.*, at Weather Service Co.,Ltd..

lowed by dispersal of Japanese cypress pollen, which reaches a peak from late March to early April, with some variation due to changes in the climate each year.^{7,8} The pollen dispersal season lasts for more than 10 weeks in and around the Tokyo area.

PREVALENCE OF CEDAR POLLINOSIS IN JAPAN

A survey based only on a questionnaire has the risk of inclusion of a high rate of false-positive cases, because allergic rhinitis is sometimes difficult to distinguish from acute upper respiratory infection and even normal healthy individuals may exhibit mild, non-specific nasal symptoms, such as sneezing and nasal secretion. In particular, cedar pollen dispersal season is also high flu season. An allergen-specific IgE test is necessary to avoid a high incidence of false positives, but it has been difficult to conduct an epidemiological study in Japan because of laws preventing use of personal information. In 2008, a questionnaire was posed to the Otorhinolaryngologists nationwide to determine whether their families suffered from allergic rhinitis. Although the rate of return of the questionnaire was low, i.e., 40% and the bias of the population could not be ignored, an accurate diagnosis was expected.

According to the analysis of this questionnaire,⁹ the prevalence of perennial allergic rhinitis and of cedar pollinosis was 23.4% and 26.5%, respectively. In particular, the prevalence of cedar pollinosis in-

creased more than 10% compared with that observed in a similar questionnaire conducted in 1998. Although the peak of cedar pollinosis is in those in their thirties to forties, the age onset of pollinosis has been decreasing (Fig. 2).

Figure 3 shows the annual amount of cedar pollen dispersal in Japan, which we examined in 2005. The darker brown parts indicate areas where cedar pollen counts were high. We studied the influence of various amounts of pollen exposure on the development of pollinosis and mite allergic rhinitis in elementary school students from schools in rural areas where the movement of students out of or into the school was uncommon. The annual amount of cedar and cypress pollen differed among these five regions. The pollen level was very high in southern Yamanashi: about 7,000/cm² on average for the last five years, as determined using Durham pollen samplers. In contrast, the pollen level was low in northern Yamanashi and inland Akita, at about 2,000/cm², and very low in coastal Akita, at about 500/cm². The pollen level in Chiba was about 4,000/cm².

Figure 4 shows the detection rate of cedar- and mite-specific IgE in students in these regions. The positive rate for Japanese cedar was about 60%, except for students in coastal Akita, who had a rate of only 23%. The positive rate for mite IgE was about 50% in each region. These results suggest that the sensitization rate for mite allergen is almost the same nationwide, whereas that for cedar pollen is depend-