

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「アレルギー疾患・自己免疫疾患などの
発症機構と治療技術」
研究課題「細胞内シグナル制御による
免疫リプログラミング」

研究終了報告書

研究期間 平成 20年 10月～平成 26年 3月

研究代表者：吉村昭彦
(慶應義塾大学医学部、教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

本研究の目標はサイトカインとそのシグナル系を中心に免疫系(特に樹状細胞とT細胞)の正と負の反応を明らかにし、アレルギーや自己免疫疾患の原因となる免疫応答のプログラムを正から負へと転換することである。この目標を達成するために具体的には①IL-17産生機構の解明とIL-17産生細胞の同定、②IL-13産生細胞の同定、を行い、さらに③サイトカインシグナルによる免疫寛容の維持機構の解明と④エフェクターT細胞から抑制性T細胞(Treg)へ転換する方向の開発、を行った。①に関して吉村グループではTGF β のシグナルに着目して解析を行いTh1の抑制やFoxp3の誘導はSmad2/3に依存するが、Th17の誘導はSmad2/3非依存的で、JNKを介したeomesoderminの抑制がひとつの経路であることを明らかにした。また脳梗塞モデルにおいて $\gamma\delta$ T細胞が主要なIL-17産生源であることを明らかにした。永井グループではPI3K-Akt-mTOR経路や低酸素分圧がTh17分化を制御すること、ROR γ tがリン酸化によって核内移行することを明らかにした。②に関しては永井グループの茂呂らはIL-13を産生し、寄生虫感染防御に重要な役割を果たす2型自然リンパ球(ILC2)(当初NH細胞と呼ばれた)を発見した。③に関して吉村らはSOCS1がTregの安定性に必要であること、SOCS1欠損Tregでは可塑性が亢進しTh1やTh17などのエフェクター機能が発現されることを見いだした。また樹状細胞においてはプロスタグランジン(PG)E2-cAMP経路がNF- κ Bの抑制とIL-10の産生を介して腸の免疫寛容状態に必要であること、またSmad2がTGF β 産生の産生調節を介して消化管におけるTregの増減に寄与することを見いだした。後者の場合、Smad2がTGF β の転写を抑制しており、Smad2欠損樹状細胞は強力な抑制性樹状細胞(regDC)となりうることを明らかにした。④に関してFoxp3プロモーター/ルシフェラーゼによる機能的なスクリーニングを行い、Nr4a2がFoxp3プロモーターを直接活性化すること、Nr4aファミリーはTregの分化に必須であることを見いだした。Nr4aはTregをつくるkeyファクターであり、Nr4aの人為的操作によって炎症を抑制することが可能であることを実験的に証明した。また樹状細胞とTGF β およびepigeneticに作用する薬剤の組み合わせを用いて、少なくともナイーブT細胞からは移植臓を長期生存させるiTregの作製方法を確立した。一方、完全分化したTh1やTh17からFoxp3陽性細胞を作製する方法については、不完全ながらいくつかの薬剤と培養系の組み合わせによってある程度Foxp3陽性細胞を作出することが可能であることが示唆された。

以上のように当研究グループの成果は多岐にわたるものの、大きくは①免疫を促進するTh17やILC2の制御機構の解明、②抑制性のTregやregDCの産生機構の解明および創成を通じて人為的に免疫応答を改変する方法論を開拓したと言える。

(2) 顕著な成果

＜優れた基礎研究としての成果＞

1. 概要: PGE2 および Smad2 による消化管免疫寛容維持機構の発見とその分子機構の解明: Rag 欠損マウスでは腸内細菌の存在にもかかわらず腸炎が生じないことから Treg に依存しない自然免疫系の抑制機構の存在が示唆された。消化管に大量に存在しマクロファージや樹状細胞の活性化を抑制する物質として PGE2 を同定し、試験管内および個体において炎症性サイトカインの産生や腸炎を抑制していることを証明した。PGE2 は cAMP-c-Fos 経路を介して NF- κ B を抑制し、その結果 TNF α や IL-12 の産生を抑制するとともに IL-10 の産生を増強することで抑制的に作用することを見いだした。また Smad2 欠損樹状細胞は TGF β を高産生し Treg を効率に誘導することを見いだした。

2. 概要: 新規サイトカイン産生細胞の発見: 永井グループの茂呂らは腸間膜脂肪組織に存在する新しい細胞集団 NH 細胞を発見した。この細胞はとくに寄生虫感染において上皮細胞の分化と寄生虫排除に重要であることを明らかにした。また吉村グループの七田らはマウス脳梗塞モデルを用いてマクロファージからの IL-23、 γ δ T 細胞からの IL-17 が梗塞後の炎症と神経細胞死に促進的に働くことを明らかにした。

3. 概要: Treg の安定性や可塑性に寄与する分子の発見: SOCS1 を Treg で欠損させたところ自己免疫疾患やアレルギー症状を自然発症した。SOCS1 を欠損した Treg は Foxp3 が不安定化しており容易に IFN γ 、IL-17 や IL-4 を産生するようになった。すなわち SOCS1 は Treg の機能維持や可塑性の制限に重要な役割を担っていることを明らかにした。

＜科学技術イノベーション・臨床応用に大きく寄与する成果＞

1. 概要: Th17 分化を規定する新規メカニズムの解明と治療標的分子の同定: Th17 分化を制御する新しい機構として JNK-Eomes、PI3K-mTOR 経路を見いだした。JNK 阻害剤や mTOR 阻害剤によって自己免疫性脳脊髄炎モデルなどの Th17 型の自己免疫疾患を抑制することがわかった。またスクリーニングによって CDK 阻害剤も Th17 抑制に作用することを明らかにした。

2. 概要: Treg を創る Nr4a 遺伝子の発見と治療応用: Nr4a ファミリーである Nr4a1, Nr4a2, Nr4a3 には Foxp3 の転写を促進する作用があり、生理的に Nr4a は Treg の分化に必須の役割を担うことがわかった。また Nr4a の強制発現により、個体レベルで非 TregT 細胞を Treg に転換し炎症性疾患の治療に応用できることが明らかとなった。

3. 概要: ヒト線維芽細胞から血管内皮細胞へのダイレクトリプログラミング方法の確立: ある単一遺伝子をヒト線維芽細胞に導入すると血管内皮細胞へと分化することを発見した。これによって得られた内皮細胞は虚血モデルの治療に応用が可能であった。

§ 2. 当初の研究構想

免疫応答は、正の応答を担うエフェクター細胞と負の応答を担う抑制性の細胞(Treg など)が適切に分化誘導ないし活性化されて進行しホメオスタシスが維持される。この正負のバランスの破綻がアレルギーや自己免疫疾患などの免疫疾患に直結する。免疫担当細胞の分化や増幅はサイトカインおよびそのシグナル、転写因子ネットワーク、細胞内レドックスなどによって制御されている。本研究ではこのような①樹状細胞やT細胞の分化を決定するプログラムを解明し、②正負のバランスを制御する、さらに③immunity を tolerance に転換する(リプログラミング)方法および因子を見いだす。リプログラミング因子の免疫寛容およびその破綻によるアレルギーもしくは自己免疫疾患(特に腸疾患と脳脊髄炎)における意義を解明し、エフェクターから抑制性へ転換し免疫疾患を治療する新たな方法論を開発する。

§ 3 研究実施体制

(1)研究チームの体制について

①「吉村」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加期間
吉村 昭彦	慶応義塾大学・医学部	教授	H20.10～
森田 林平	慶応義塾大学・医学部	講師	H21.8～
木村 彰宏	慶応義塾大学・医学部	助教	H22.7～
七田 崇	慶応義塾大学・医学部	助教	H21.1～
深谷 知宏	慶応義塾大学・医学部	特別研究員 PD	H23.4～
中川竜介	慶応義塾大学・医学部	特任準教授	H25.4～
真嶋隆一	慶応義塾大学・医学部	特任講師	H21.4～
関谷 高史	慶応義塾大学・医学部	助教、講師	H20.10～
井上直子	慶応義塾大学・医学部	特別研究員 RPD	H22.1～
小谷 仁司	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H24.4～
朝川 真也子	慶応義塾大学・医学部	技術員	H20.10～
黒田 有希子	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H25.7～H25.12
過足 芳子	慶応義塾大学・医学部	研究員	H22.4～
鶴田早苗	慶応義塾大学・医学部	技術員	H24.4～
野口淑子	慶応義塾大学・医学部	技術員	H24.4～
椎野典子	慶応義塾大学・医学部	研究員	H24.4～
清水 奈々	慶応義塾大学・医学部	技術員	H23.4～
武藤 剛	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H22.4～
田宮 大雅	慶応義塾大学・医学部	D1～D3	H23.4～
柏木 一光	慶応義塾大学・医学部	D1～D2	H24.4～
鈴木 麻友	慶応義塾大学・医学部	D1～D2	H24.4～

坂口 了太	慶応義塾大学・医学部	D1～D2	H24.4～
伊藤美菜子	慶応義塾大学・医学部	D1～D1	H25.4～
近藤 泰介	慶応義塾大学・医学部	D1～D1	H25.4～
Arnaud Cousinet	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H22.5～H25.6
吉田 怜	慶応義塾大学・医学部	研究員	H24.5～H25.5
阿部 弘美	慶応義塾大学・医学部	研究員	H23.11～H25.3
西本 周平	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H25.3
森 智章	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H25.3
高里 文香	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H25.3
谷 いと	慶応義塾大学・医学部	研究生	H24.4～H25.3
新倉芹菜	慶応義塾大学・医学部	研究生	H24.4～H25.3
高田 伊知郎	慶応義塾大学・医学部	講師	H21.4～H24.12
梶 京資	慶応義塾大学・医学部	技術員	H23.4～H25.3
高橋 令子	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H21.4～H24.3
吉田亮子	慶応義塾大学・医学部	特別研究員	H21.1～H23.3
若林 友	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H24.3
樋渡清司	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H20.12～H22.8
金城 市子	慶応義塾大学・医学部	助教	H20.10～H21.7
谷川 令奈	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H21.4～H21.8
谷川 隆久	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H21.4～H21.8
瀧本智仁	慶応義塾大学・医学部	D3～D4	H21.1～H22.3
椎野 典子	慶応義塾大学・医学部	技術員	H20.10～H23.3
上瀧 芙蓉	慶応義塾大学・医学部	研究員	H21.4～H23.3
駒井恭子	慶応義塾大学・医学部	D1～D2	H21.4～H23.3
橋本 雅之	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.1～H23.3
市山 健司	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.1～H23.3
石崎 琢磨	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H24.3
杉山 由紀	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H24.3
吉田 秀之	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H24.3

研究項目

- ・ T 細胞と樹状細胞のリプログラミング
- ・ Th17 分化制御機構の解明と治療標的の探索

②「永井」グループ

研究参加者

氏名	所属	役職	参加期間
永井重徳	慶応義塾大学・医学部	助教	H21.1～
永井武	慶応義塾大学・医学部	助教	H21.1～
箕輪 明子	慶応義塾大学・医学部	技術員	H21.1～
馬場夕紀子	慶応義塾大学・医学部	技術員	H21.1～
平田泰子	慶応義塾大学・医学部	技術員	H21.1～
磯 翠	慶応義塾大学・医学部	M1～M2	H24.4～
菊池 三佐子	慶応義塾大学・医学部	技術補佐員	H23.4～
白壁 恭子	慶応義塾大学・医学部	講師	H25.4～
Arnaud Cousinet	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H22.5～H25.6
藤猪英樹	慶応義塾大学・医学部	助教	H24.12～H25.3
白木文子	慶応義塾大学・医学部	特任助教	H23.4～H25.3
茂呂和世	慶応義塾大学・医学部	助教	H21.1～H23.3
千葉紗由利	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.1～H23.3
池尻藍	慶応義塾大学・医学部	D1～D4	H21.4～H24.3

研究項目

- ・ PI3 キナーゼを中心とした Th17 分化制御機構の解明
- ・ IL-13 産生ナチュラルヘルパー細胞の発見

(2)国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

以下は共同研究、開発者の一部である。

国内共同研究者：九州大学・野村政壽、理化学研究所・小安重夫、東京工業大学・一瀬宏ら多数。

国際共同研究者：Alexander Rudensky, PhD (Chairman, Immunology Program, Sloan-Kettering Institute) ほか

産業界との連携：製薬企業との共同研究を実施中。

§ 4 研究実施内容及び成果

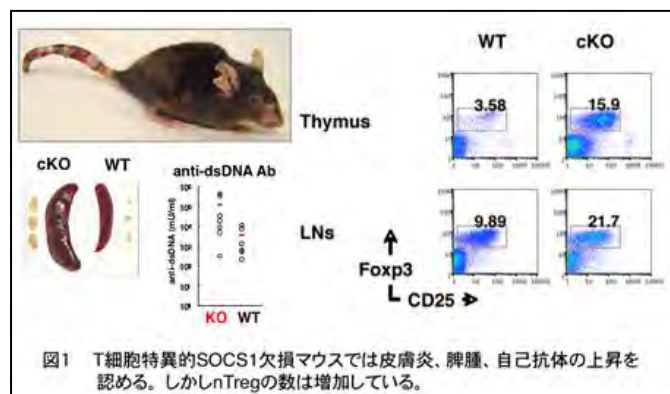
4-1. Tregの可塑性に関する研究

① 研究のねらい

本研究提案の目標は最終的にエフェクターT細胞を抑制性T細胞にリプログラムすることである。一方で逆のTregからエフェクターへの転換は様々な報告がなされている。胸腺由来のnTregのTCRは自己タンパクに対し高い親和性を有していることから、nTregがFoxp3を失ってエフェクターとなりIFN γ などのサイトカインを産生した場合(exFoxp3とも呼ばれる)自己免疫疾患の原因となったり増悪化に寄与すると予想される。最近多発性硬化症の患者でIFN γ 陽性Foxp3陽性細胞の存在が報告されている(*Nature Medicine* 2011, 17, 673-75)。しかし一方で真性のnTregはFoxp3を安定に維持しており炎症や lymphopenic な条件でも安定であるという説も出されている。少なくとも試験管内の実験やRag欠損マウスへの移入の実験ではFoxp3の消失が起こる。したがって生体内ではnTregでは何らかのFoxp3保護分子が存在してFoxp3の発現を安定に保っている可能性を示している。このようなメカニズムの解明は人工的にTregを作製した場合も安定にTregを生存させるために必要である。我々はすでにSmad2/3欠損マウスの解析からTGF β —Smad2/3のシグナルが末梢でのTregの安定性に必要であることを報告した(*J Immunol.* 2010 Jul 15;185(2):842-55.)。SOCS1はnTregで高い発現を保っており、サイトカインシグナルをブロックすることからnTregをサイトカインの攻撃から守っている可能性が考えられる。もしこのような機構が存在するならば、逆にサイトカインシグナルを制御しnTregの安定性を増すことも可能と考えられる。そこでnTregにおけるSOCS1の機能解明を行った。またFoxp3はc-Relを介しても発現が制御される。NF-kBの活性化に必要なTRAF6をTreg特異的に欠損させたマウスの解析もあわせて行った。

② 研究実施方法

- (1) T細胞特異的SOCS1欠損マウスはLckCreマウスとSOCS1-floxマウスを交配して得られた。さらにFoxp3-GFPマウスを交配しTregをマーキングした。
- (2) Treg特異的SOCS1欠損マウスはFoxp3CreマウスとTRAF6-floxマウスを交配して得られた。exFoxp3を検出するためにCreの発現によって恒久的にRFPでマーキングするfate-mappingマウスも作製した。



③ 得られた成果

- (1) T細胞特異的SOCS1欠損マウスは、皮膚炎、自己抗体産生の上昇などのSLE様病態を呈する(図1)。一方胸腺由来のnTreg数は上昇していた(*Immunity*. 2009 Jan;30(1):80-91)。抗IL-2抗体を投与するとFoxp3陽性nTregは正常マウスと同等まで低下することから、その機序にはSOCS1欠損nTregのIL-2シグナルの亢進が考えられた。一方Foxp3Creマウスを用いてTreg特異的にSOCS1を欠損させた場合も、頻度や程度が低いものの、T細胞全体でSOCS1を欠損させた場合と同様に皮膚炎や臓器での炎症が認められた(*Cell*. 2010 Sep 17;142(6):914-29.)。よってSOCS1がnTregで欠損することがTregの機能を消失させている可能性が示唆された。そこでGFPで標識されたSOCS1欠損nTregを単離し、Rag2欠損マウスへ移入することでFoxp3の安定性や腸炎の抑制能(あるいは誘導能)について検討を行った。

欠損マウスへ naïve T 細胞と nTreg を移入し腸炎を抑制する実験では、SOCS1 欠損 Foxp3 陽性 nTreg を移入した場合は腸炎の抑制が認められなかった。そこで、Rag2 欠損マウスへそれぞれの nTreg のみを移入して、nTreg の運命を検討した。GFP でマーキングした Foxp3 陽性 T 細胞 (>99% Foxp3 陽性) を移入したところ、4 週後に WT nTreg は約 60% が Foxp3 陽性を維持しているのに対して、SOCS1 欠損 nTreg は 40%以下にまで Foxp3 陽性率が低下した。SOCS1 欠損 nTreg を移入した Rag 欠損マウスでは Foxp3陽性、陰性どちらの分画からも IFN γ や IL-17 の産生が認められ、移入したマウスは腸炎を発症した。これらの結果から、SOCS1 が nTreg において Foxp3 の安定性およびサイトカイン産生抑制に寄与することが明らかとなった。SOCS1 欠損 nTreg の Foxp3 の不安定性は試験管内の培養によっても確認された。またこのとき SOCS1 欠損 nTreg の Foxp3 プロモーターの CNS2 領域の DNA メチル化は完全にはずれており iTreg の混入は否定された。しかし Foxp3 を失った Treg では DNA メチル化が部分的に解除されており、この現象は Foxp3 陰性の少数の細胞が expand したのでは説明できない。おそらく何らかの原因で Foxp3陽性から陰性へ転換したものと考えられる。単離したばかりの nTreg を TCR やサイトカインで刺激した場合、野生型からはサイトカインの放出はほとんど認められないが、SOCS1 欠損 nTreg からは大量の IFN γ と IL-17 が放出された。

Foxp3 の不安定性の原因のひとつとしてサイトカインシグナルの過剰が示唆される。実際に単離したばかりの SOCS1 欠損 nTreg は IFN γ や IL-17 を高く産生し、STAT1 や STAT3 が高度にリン酸化されていた。そこでまず IFN γ SOCS1 両欠損マウス由来の Treg を調べた。予想通り IFN γ SOCS1 両欠損 nTreg の Foxp3 は *in vitro*, *in vivo* で安定であり Rag2 欠損マウスに移入しても腸炎を誘導しなかった。また STAT1 のリン酸化も見られなかった。したがって nTreg において SOCS1 は STAT1 の過剰な活性化を抑制し、Foxp3 の安定性と IFN γ の産生抑制を担う重要な役割を持つことがわかる。しかしながら Rag 欠損マウスにナイーブ T 細胞を移入して起こす腸炎を IFN γ SOCS1 両欠損 nTreg はやはり抑制できなかった。このマウスでは Treg および移入したナイーブ T 細胞からの IL-17 の異常な産生が起こっていた。IFN γ SOCS1 両欠損 nTreg でも STAT3 の活性化は高く維持されていたのでこれらの Th17 誘導性サイトカイン産生は STAT3 によって強く促進されている可能性が考えられる。以上の結果より SOCS1 は STAT1 を制限して Foxp3 の消失や IFN γ の産生を抑制しているのみならず、STAT3 の過剰な活性化を抑制し IL-6 や IL-17 などの STAT3 下流のサイトカインの産生も抑制していることが示唆された。これらの結果は SOCS1 が nTreg の重要な守護神であることを示している(図2)。以上の結果は *J. Exp. Med.* 2011 Sep 26;208(10):2055-67.に掲載された。

(2) Foxp3 発現細胞特異的な TRAF6 欠損マウスを作成した。このマウスは発生における明らかな異常は認めないものの、生後 4 週以降徐々に(16 週までには全例で)、全身の著明なリンパ節腫脹・皮膚炎・節炎を伴う炎症を自然に発症することが明らかになった。

SOCS1 is a guardian of nTregs.

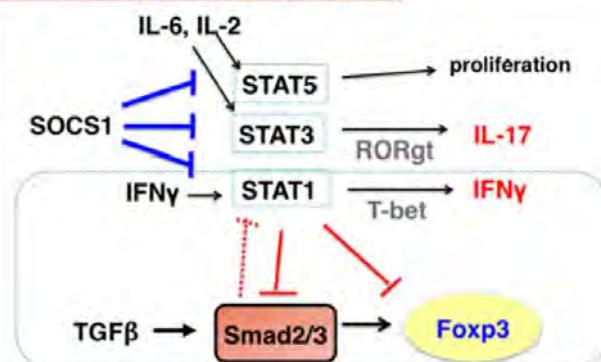


図2 SOCS1はnTregの守護神のひとり。Foxp3はSmad2/3によって安定化され、STAT1によって不安定となる。STAT1はT-betの発現を誘導しIFN γ を産生させる。またIL-2によるSTAT5の活性化はTregの数を増やす。IL-6などによるSTAT3の活性化はROR γ tの発現を上げ、IL-17産生を誘導する。

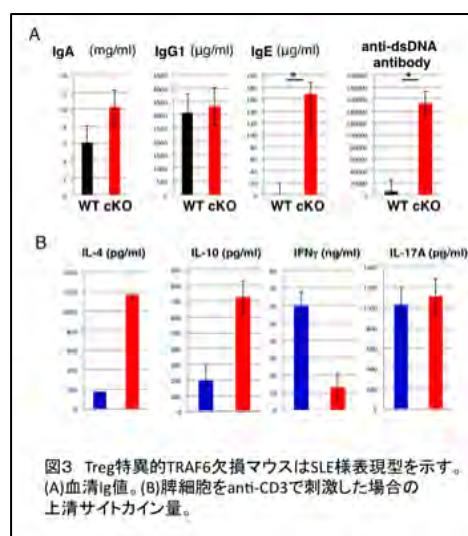


図3 Treg特異的TRAF6欠損マウスはSLE様表現型を示す。(A)血清Ig値。(B)脾細胞をanti-CD3で刺激した場合の上清サイトカイン量。

さらに血清 IgE 値の著増、脾臓からの IL-4, IL-10 産生の亢進が認められた。また脾臓やリンパ節で胚中心形成が見られた。よってこの欠損マウスの自然炎症の本態は Th2 型であることが示唆された。胸腺の Treg 数には有意差は認めないが、脾臓・リンパ節の Treg 数は欠損マウスで著増していた。メモリー T 細胞も増加していることから、この Treg の増加は全身の炎症による IL-2 増加によるものと推定した。TRAF6cKO マウスより Foxp3 陽性 Treg を単離し、Rag 欠損マウスに移入を行ったところ SOCS1 欠損 Treg の場合と同様に Foxp 陽性細胞の減少と exFoxp3 細胞の増加が認められた。さらにナイーブ T 細胞移入による腸炎抑制能を調べたところ TRAF6 欠損 Treg はやはり抑制能が劣っていた。さらなる解析およびメスマウスの解析より、非炎症状態では TRAF6 欠損 Treg は細胞数が減少することも明らかとなった。また TRAF6 欠損 exFoxp3 細胞は IL-4 などのサイトカイン産生能が亢進していた。すなわち TRAF6 は SOCS1 と同様に Treg において Foxp3 を安定に発現させるために必要な分子であることが明らかとなった。本研究の成果は論文投稿中である。

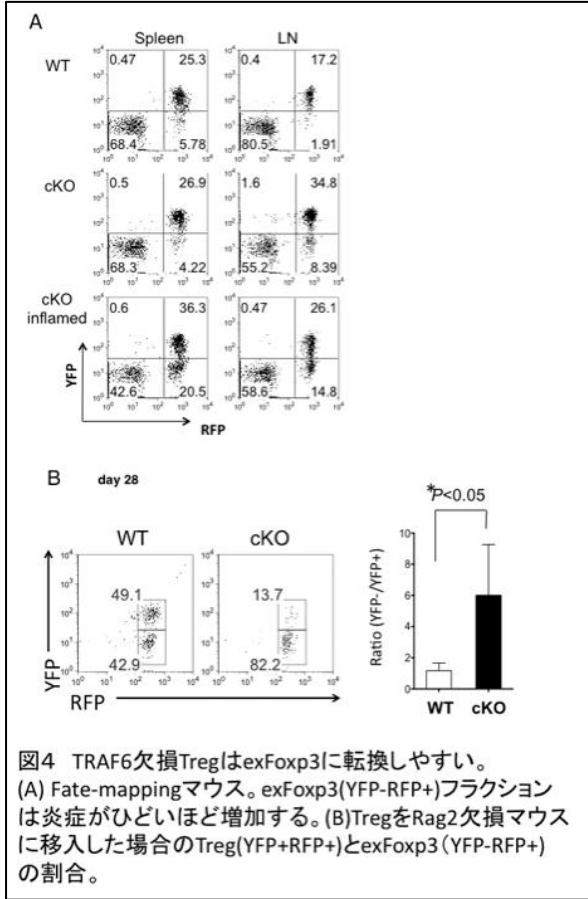


図4 TRAF6欠損TregはexFoxp3に転換しやすい。(A) Fate-mappingマウス。exFoxp3(YFP-RFP+)フラクションは炎症がひどいほど増加する。(B) TregをRag2欠損マウスに移入した場合のTreg(YFP+RFP+)とexFoxp3(YFP-RFP+)の割合。

④ 今後の展開

すでに示したように Foxp3 の安定な発現のためには Smad2/3 に加えて SOCS1 や TRAF6 を必要とする。SOCS1 は STAT1 の過剰な活性化を抑制することで Foxp3 を安定化していると考えられるが、STAT1 がどうして Foxp3 の発現を低下させるのか、そのメカニズムの解明は今後の課題である。またこのような性質をどのように疾患治療に結びつけるかも今後の課題である。さらに TRAF6 も Foxp3 の安定発現に必要であるがその下流の転写因子の同定も重要な課題である。

4-2 新規 Foxp3 誘導因子 Nr4a の発見

① 研究のねらい

TGF β はナイーブ T 細胞に Foxp3 を誘導することができるが、Th1 などのエフェクターに分化した T 細胞には誘導できない。例えば活性化型 TGF β 受容体 RI をエフェクター T 細胞に強制発現しても Foxp3 は誘導されなかった。すなわち TGF β による Foxp3 の誘導や IFN γ の抑制はナイーブ T 細胞でのみ観察され、一旦活性化された T 細胞に TGF β 受容体-Samd 経路だけでは Treg に転換することは困難であることがわかった。一方で Smad2/3 両欠損マウスでも nTreg の発生は正常に起こっていた。このことから胸腺においては TGF β に依存しない何らかの Foxp3 発現維持機構が存在することが示唆される。活性化型 T 細胞を抑制型に転換するという T 細胞のリプログラミングの目標のために、Smad 非依存的に Foxp3 を誘導する遺伝子を単離することをめざした。

② 研究実施方法

遺伝子発現データベース検索を中心に Treg 誘導に機能する候補因子を選別した。方法としては(1)Treg で発現の高い転写因子を中心に約 150 遺伝子を完全長 cDNA ライブラリーよりピックアップし、293 細胞を用いた Foxp3 プロモーター／ルシフェラーゼによる機能的なスクリーニングを行った。(2)データベースより Treg で発現が高く Foxp3 や TGF β の標的ではない遺伝子 13 個をピックアップしナイーブ T 細胞に発現させ Foxp3 の誘導がないか調べた。この2つの方法から核内オファン受容体である Nr4a2 が Foxp3 プロモーターを直接活性化することを見いだした。ナイーブ T 細胞を用いた実験では、弱いながらファミリー分子である Nr4a1 と Nr4a3 にも Foxp3 誘導能があることがわかった(図1A)。また Nr4a2 によって誘導された Treg は少なくとも *in vitro* では抑制能を有していた(図1C)。

③ 得られた成果

Nr4a2 は Treg で発現が高く恒常的に発現が見られるが、ナイーブ T 細胞では TCR 刺激によって一過性に発現が誘導される。Nr4a2 をレトロウイルスベクターを用い CD4⁺ T 細胞に発現させ TCR 刺激を行うと、Foxp3 を強く発現誘導することを確認した(図1)。iTreg は TGF β と IL-2 で誘導されることが知られているが、Nr4a2 による Foxp3 誘導は TGF β 中和抗体や TGF β 受容体阻害剤存在化にも起こったため Nr4a2 は TGF β /Smads と独立に Foxp3 を誘導する能力がある。

Nr4a2 による Foxp3 発現誘導メカニズムの解析を、まずルシフェラーゼレポーターアッセイを用いた。その結果 Nr4a2 は主に Foxp3 のコアプロモーター領域を介し転写を活性化することを見出した。また、Nr4a2 は一部 CNS1 エンハンサーにも作用することを見出した。ChIP 解析を行ったところ、Nr4a2 は Foxp3 プロモーター領域に結合し、さらに異所的発現により Foxp3 プロモーターやエンハンサーに活性化型ヒストン修飾を誘導した(図2A)。これらの結果から、Nr4a2 は Foxp3 プロモーター/エンハンサーに直接作用し、発現誘導を引き起こす機能を持つことを確認した。また Nr4a2 は Runx1 と会合することを確認した(図2B)。

しかし、Nr4a2 のみを T 細胞で欠損させたマウスを作製し解析を行ったが、そのマウスでは Treg は正常に分化し、自己免疫疾患も見られなかった。ファミリー分子である Nr4a1 と Nr4a3 による機能重複の可能性が考えられた。そこで、Nr4a1, Nr4a2, Nr4a3 全てを T 細胞特異的に欠損させたマウス個体(Nr4a triple knockout mouse: Nr4a-TKO マウス)を作成し解析を行った。その結果、このマウスでは胸腺・末梢共に

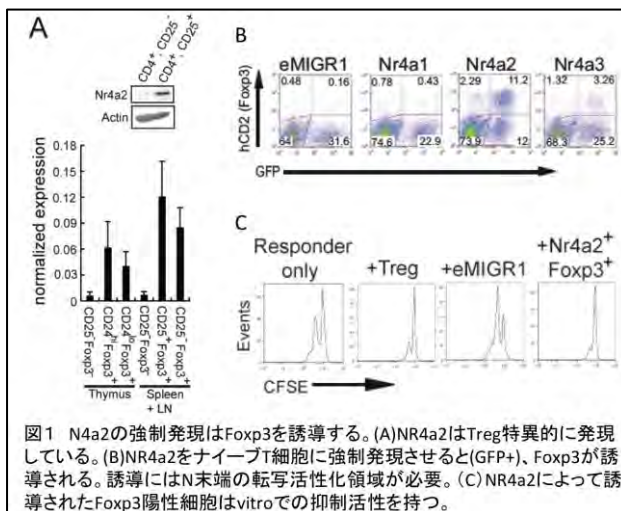


図1 Nr4a2の強制発現はFoxp3を誘導する。(A)Nr4a2はTreg特異的に発現している。(B)Nr4a2をナイーブT細胞に強制発現させると(GFP+), Foxp3が誘導される。誘導にはN末端の転写活性化領域が必要。(C)Nr4a2によって誘導されたFoxp3陽性細胞は*in vitro*での抑制活性を持つ。

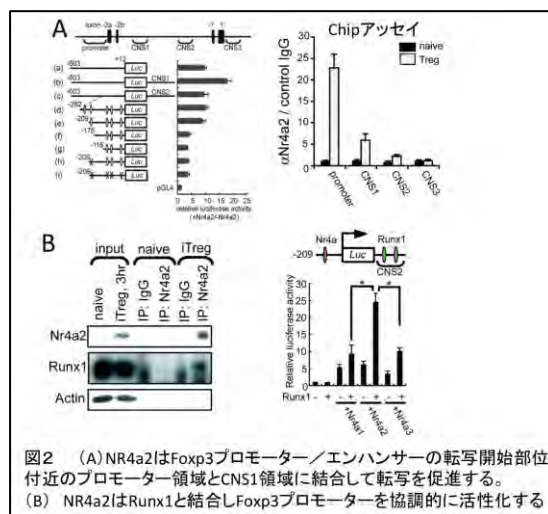


図2 (A) Nr4a2はFoxp3プロモーター／エンハンサーの転写開始部位付近のプロモーター領域とCNS1領域に結合して転写を促進する。(B) Nr4a2はRunx1と結合しFoxp3プロモーターを協調的に活性化する

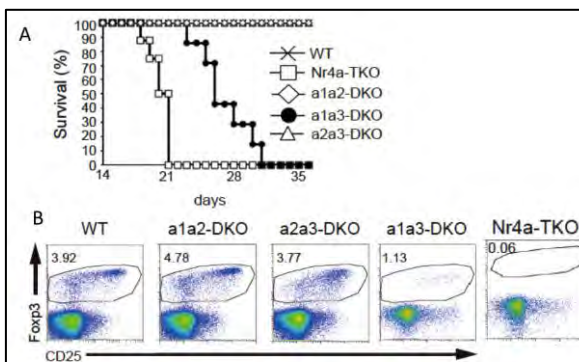


図3: Nr4a1, Nr4a2, Nr4a3ダブルノックアウト(DKO)マウスおよびトリプルノックアウト(TKO)マウスの生存率(A)と胸腺におけるTregの発生(B)

Treg がほぼ全く存在しないことが明らかとなった。さらにこの TKO マウスでは、CD4 陽性細胞の著明な活性化、自己抗体価の上昇がみられ、肺・肝臓で特に激しい全身性の自己免疫疾患を発症し、生後 3 週間以内に死亡した(図3A)。同時にこの TKO マウスでは IL-4 産生 CD4 陽性 T 細胞の割合の増加、IgE, IgG1 のような Th2 型アイソタイプの抗体価の上昇が見られ、Th2 型ヘルパー T 細胞の機能が優位な炎症反応が生じていることが明らかとなった。

Nr4a-TKO マウスでは上述の通り激しい全身性の自己免疫疾患が引き起こされる。Treg の分化異常はその 2 次的な影響である可能性も考えられた。そこで野生型と Nr4a-TKO の造血幹細胞が混在するマウスを骨髄移植により作成することにより、同一個体内で野生型と Nr4a-TKO 両方の T 細胞の発生を比較解析した(図4)。このマウスでは野生型細胞由来の Treg が存在するため、自己免疫疾患は生じない。解析の結果、このマウスでは野生型細胞から分化した Treg は存在する一方、Nr4a-TKO 細胞から分化した Treg は全く存在しなかった。これらの結果から、Nr4a は CD4 陽性 T 細胞内在的に Treg 発生に寄与することが確認された(図4)。

また Nr4a1,2 欠損 Nr4a3 ヘテロマウス由来の CD4 陽性ナイーブ T 細胞を TCR と TGFβ で刺激したところ Foxp3 の誘導がほとんど見られなかった。Nr4a ファミリーは iTreg の誘導にも Smad とともに、あるいは Smad の下流で必須の役割を果たしているものと考えられる。

次にシングルノックアウトマウス、ダブルノックアウトマウスを解析することで各因子の関与の度合いを解析した。その結果、各因子のシングルノックアウトでは顕著なフェノタイプは確認されなかった。さらに Nr4a1-Nr4a2、Nr4a2-Nr4a3 の組み合わせのダブルノックアウトでも Treg は発生し自己免疫疾患も見られなかったが、Nr4a1-Nr4a3 のダブルノックアウトでは自己免疫疾患がみられ、Treg 分化の減少も確認された。これらの結果は Nr4a1 と Nr4a3 の寄与が大きいことが示唆している(図3)。しかし、Nr4a1-Nr4a3 ダブルノックアウトマウスでは Nr4a-TKO マウスと比較し、有意に多くの Treg が胸腺で発生し、さらに生存日数も長いために Nr4a2 の寄与も明らかとなった。このような Nr4a ファミリー間の寄与の違いが何に由来するのかは現在のまでのところ不明である。Nr4a ファミリーのリガンド結合ドメインをエストロゲン受容体のリガンド結合ドメイン(ERT2)に置換したところすべて同程度に Foxp3 を誘導することから胸腺に未知のリガンドが存在する可能性も考えられる。

Nr4a の活性化によって機能的な Treg が創られることを示すために、Nr4a2 のリガンド結合ドメインをエストロゲン受容体のリガンド結合ドメインと置換したキメラ遺伝子(Nr4a-ERT2)をレトロウイルスによって OT-II-TCR-トランスジェニックマウス/Rag2^{-/-}マウス(OT-II/Rag)の骨髄細胞に導入し、放射線照射した Rag2 欠損マウスに移入した(図5上)。OT-II/Rag マウス由来の T 細胞は自己抗原が存在しないため、通常 Treg に分化できない。Nr4a2-ERT2 を

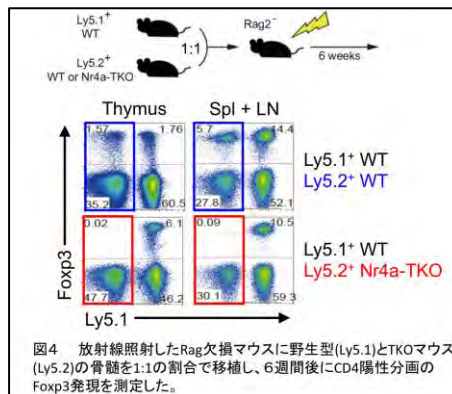


図4 放射線照射したRag欠損マウスに野生型(Ly5.1)とTKOマウス(Ly5.2)の骨髄を1:1の割合で移植し、6週間後にCD4陽性分画のFoxp3発現を測定した。

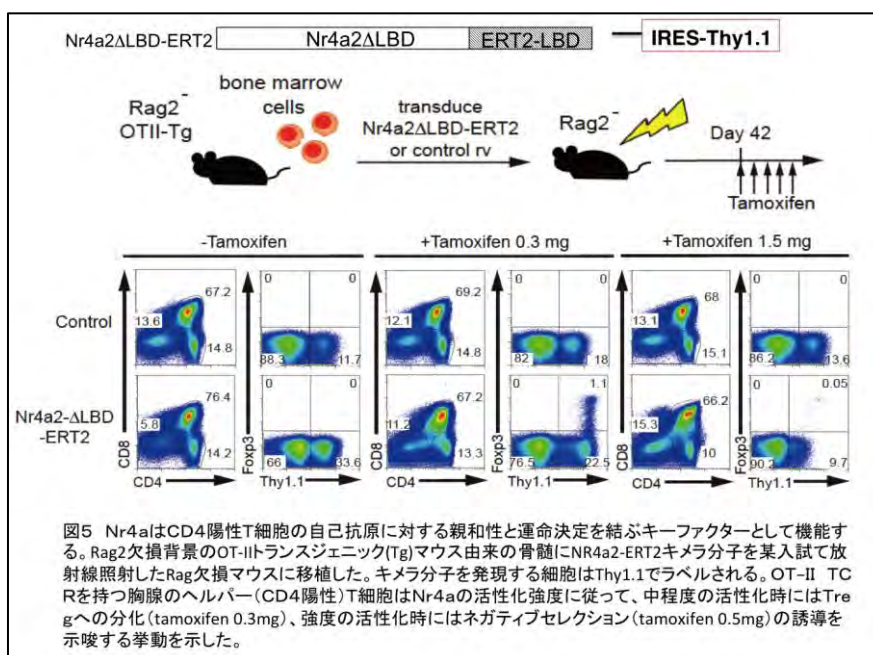
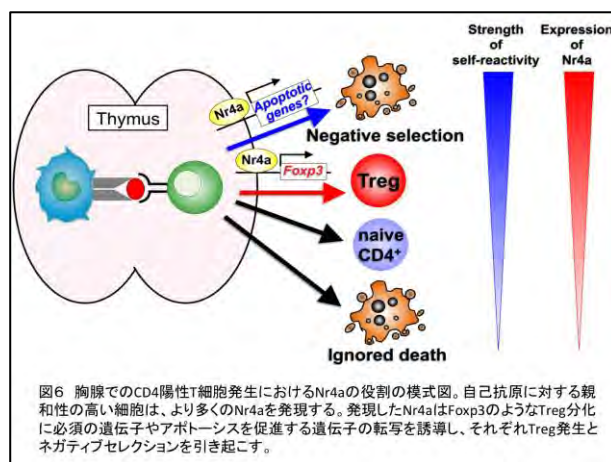


図5 Nr4aはCD4陽性T細胞の自己抗原に対する親和性と運命決定を結ぶキーフaktorとして機能する。Rag2欠損背景のOT-IIトランスジェニック(Tg)マウス由来の骨髄にNr4a2-ERT2キメラ分子を某入試て放射線照射したRag欠損マウスに移植した。キメラ分子を発現する細胞はThy1.1でラベルされる。OT-II TCRを持つ胸腺のヘルパー(CD4陽性)T細胞はNr4aの活性化強度に従って、中程度の活性化時にはTregへの分化(tamoxifen 0.3mg)、強度の活性化時にはネガティブセレクション(tamoxifen 0.5mg)の誘導を示唆する挙動を示した。

導入した骨髄を移植したマウスでは Nr4a の活性の無い状態では Treg は全く発生しなかったが、タモキシフェン投与により中程度活性化させた状態(図5中央)では Foxp3 発現細胞の出現が確認された。Nr4a をさらに強く活性化させると、今度は細胞数の減少が確認され、ネガティブセレクションの誘導が示唆された(図5右)。これらの結果から、自己抗原に対する親和性の強度に従った CD4 陽性 T 細胞運命決定において、Nr4a はキーファクターとして機能する可能性が強く示された。

④今後の展開

胸腺における CD4 陽性 T 細胞発生過程で、その運命は主に自己抗原に対する親和性の強度により決定され、免疫系の恒常性の維持における重要な基盤となる。しかし、それを制御する分子機構は多くが未解明であった。本研究では、Nr4a がそのキーファクターとして機能することを明らかにした(図6)。この発見により、長い間ブラックボックスとされてきた自己抗原に対する親和性と細胞運命決定を結ぶ分子メカニズムの一旦が明らかとなったと言える。一方で Nr4a によって機能的な Treg がマウス個体内では創られることがわかったものの、どの程度完全な Treg なのか、遺伝子発現解析や DNA メチル化などの epigenetic マーカーの状態を網羅的に調べる必要がある。さらに重要な点は Nr4a によってエフェクター T 細胞から 機能的な Treg を創出する方法の確立である。これには Nr4a の Treg における発現維持機構の解明やリガンドの発見ないしアゴニストの開発が必要となるであろう。Nr4a およびそのアゴニストと epigenetic 変動を誘導する薬剤との組み合わせによって機能的な Treg を創出するプロジェクトを今後推進したい。



4-3 抗原特異的 iTreg の試験管内作製と薬剤によるエフェクター T 細胞からの Treg の誘導の試み

①研究のねらい

- (1)心臓移植の治療モデルを用いて試験管内で抗原特異的 iTreg を誘導、増幅する方法を確立する。
- (2)培養系および epigenetic に作用する薬剤を用いて活性化型 T 細胞を抑制型 Treg に転換する方法論を確立する。

②研究実施方法

- (1) 心臓移植モデルは C57BL/6 (H-2K^b)の心臓を CBA/N (H-2K^k)の下大静脈と腹部大動脈に吻合し心臓として拍動を保ったまま移植する方法を用いた(Niimi M. *The Journal of heart and lung transplantation* 2001;20(10):1123-1128)。通常この移植では移植心臓は1週間程度で拒絶される。
- (2) H-2K^b 特異的 Treg は CBA/N 骨髄由来の樹状細胞(BMDC)と H-2K^b の主要抗原ペプチド K^b 54-68 (QEGPEYWERETQKAKG)(10 μ g/ml)、IL-2 (10ng/ml)、TGF- β (2ng/ml)、抗 IFN γ および抗 IL-4 抗体存在下に CBA/N 由来のナイーブ T 細胞(CD3⁺CD4⁺CD25⁺)を 1:1 の割合で 7 日間培養した。実験によっては5アザシチジン(5AzaC)10nM もしくはレチノイン酸(ATRA) 20nM を添加した。抗原非特異的 Treg は C57BL/6 由来の BMDC と CBA/N 由来のナイーブ T 細胞を IL-2 (10ng/ml)、TGF- β (2ng/ml)、抗 IFN γ および抗 IL-4 抗体存在下に共培養し、アロ MLR を行うことで得た。Treg は CD3⁺CD4⁺CD25^{bright} で FACS ソーティングを行い回収した。Foxp3 染色の結果 98%以上 Foxp3陽性であった。
- (3) Treg は心臓移植時に 1x10⁶ 個静脈注射によって移入した。
- (4) Th1 細胞および Th17 細胞は Foxp3-GFP レポーターマウスより CD3⁺CD4⁺Foxp3⁺ナイ

ーブ T 細胞を FACS ソートした後、抗 CD3 抗体、抗 CD28 抗体、IL-12 あるいは IL-6、TGF- β +IL-23 存在下で6日間培養して得た (IFN γ 陽性率約 70%、IL-17 陽性率 50%以上)。これを Tst4 ストローマ細胞と IL-7 と 5AzaC などの epigenetic 阻害試薬存在下で 7-14 日共培養し Foxp3-GFP 陽性の出現率を検討した。

④ 得られた成果

(1) H-2K^b ペプチドを提示した樹状細胞とナイーブ T 細胞を TGF β +IL-2 存在下で培養する系では、細胞比 1:1 および 1:2 で 80%以上の Foxp3陽性細胞の出現をみた。さらに ATRA10nM を添加すると Foxp3 陽性率は 95%まで上昇した。一方 5AzaC は 10nM 以上の濃度では細胞増殖抑制が強く 10nM を選択した。10nM5AzaC 添加で Foxp3 陽性率は ATRA の有無で変化がなかった (図2A)。

(2) これらの条件で誘導した iTreg を心臓移植直後に静脈注射したところ図2B

に示すように、5AzaC 処理 Treg では 20 日以上 の生着が認められたが、80 日目には拒絶された。一方 ATRA を加えて誘導した iTreg では 50%程度が 100 日生着を認めた。さらに両者を加えた場合 (TGF β +5AzaC+ATRA) では 100%、100 日以上 の生着が認められた。

(3) 抗原特異性 iTreg と非特異的 iTreg を比較した場合、抗原非特異的 iTreg では 30 日程度の生着しか認められなかった (図3)。抗原特異的 iTreg では C57BL/6 の心臓は 100 日以上生着したが Balb/c マウスの心臓は 20 日程度で拒絶されたことから抗原特異性は担保されていると考えられる。

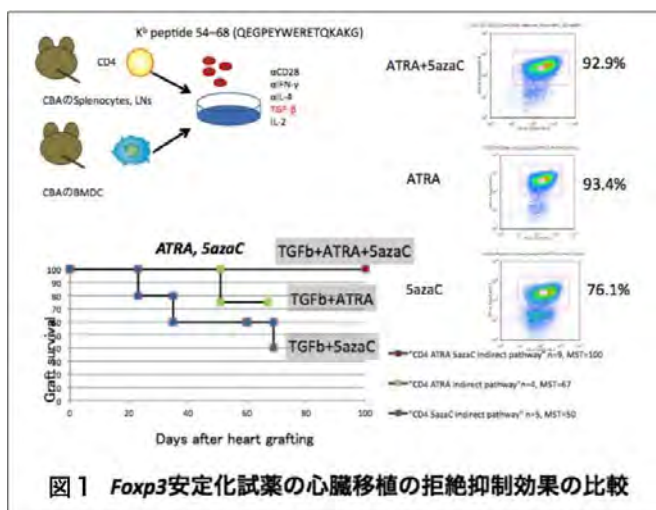


図1 Foxp3安定化試薬の心臓移植の拒絶抑制効果の比較

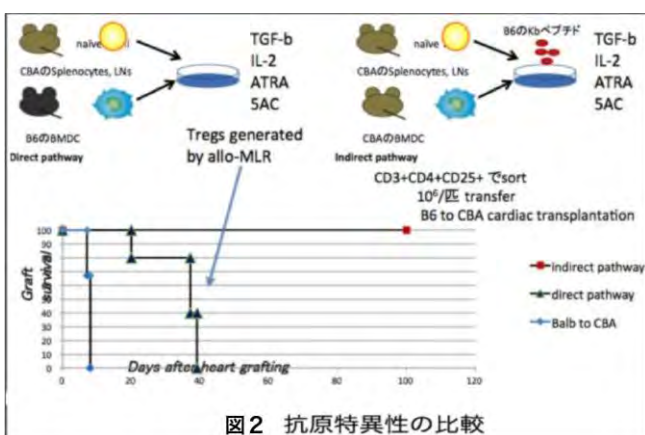


図2 抗原特異性の比較

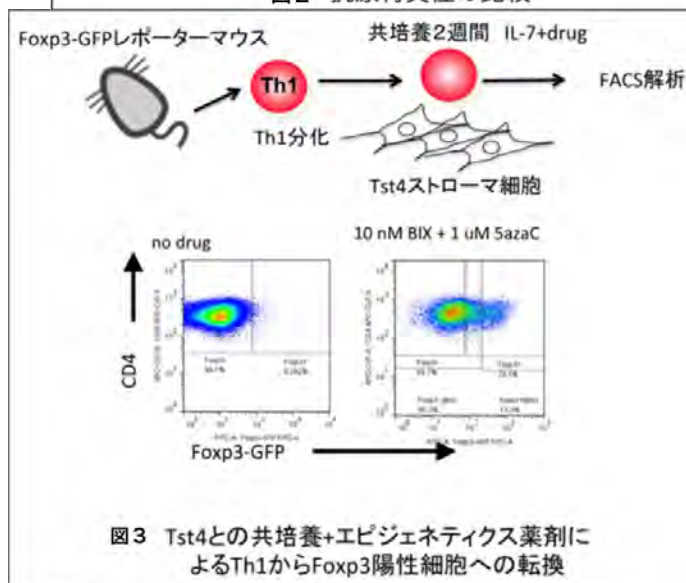


図3 Tst4との共培養+エピジェネティクス薬剤によるTh1からFoxp3陽性細胞への転換

4-4. TGF β による Treg と Th17 の誘導機構の解明

① 研究のねらい

TGF β は免疫においてIL-10とともに抗炎症性サイトカインとして知られており、その機能は多岐にわたることがわかっている。TGF β 1のKOマウスの解析からTGF β が炎症性腸疾患の抑制や自己免疫疾患の抑制に必須であることは明白であるにもかかわらず、TGF β がどのような分子機構で免疫抑制に寄与するかは解明されていなかった。しかし、ここ数年抑制性T細胞の分野で大きなブレークスルーがなされた。すなわちT細胞受容体刺激時にTGF β が存在することで、抑制性T細胞のマスター遺伝子である*Foxp3*が誘導されることが示された。一方でTGF β はIL-6とともにTh17を誘導することが知られている。またIL-4存在下でTh9を誘導する。本研究ではTGF β のシグナルを中心にSmad2/3欠損マウスを利用してTregやTh17分化誘導のメカニズムの解明をめざす。またその成果を利用して自己免疫疾患モデルの治療を試みる。

② 研究実施方法

本研究では免疫制御におけるTGF β の下流のシグナルを同定することを目的とし研究を行う。TGF β によって活性化される主な転写因子はSmad2とSmad3である。Smad3はDNAに直接結合しうるもののSmad2は他の転写因子と会合することで転写調節を行う。したがってSmad2とSmad3は機能的に異なる可能性が考えられる。しかしSmad3欠損マウスは重篤な自己免疫疾患は発症しない。そこでSmad2とSmad3の機能的相違を解明するためにT細胞特異的Smad2欠損(cKO)マウスを作製した。またSmad3欠損(KO)マウスと交配しSmad2/3両欠損マウスを作製した。

③ 得られた成果

(1)我々はT細胞特異的Smad2欠損(cKO)マウスを作製した(Takimoto et al. *J Immunol.* 2010 Jul 15;185(2):842-55.)。Smad2-cKO マウスとSmad3-KO マウスは正常に発育し自然発症的な重篤な障害は認められなかった。しかしSmad2/3 両欠損マウスは生後一ヶ月以内に肝炎を含む炎症性疾患で死亡した。したがって予想外にSmad2とSmad3は両者が重複してT細胞の活性化を抑制することを見いだした。TGF β の重要な免疫抑制作用のひとつはTh1やTh2分化の抑制である。試験管内ではナイーブT細胞をTh1に分化誘導するときにTGF β を加えると分化が抑制されFoxp3陽性細胞が増える。このときSmad2単独、Smad3単独欠損のT細胞では部分的にTh1抑制とFoxp3誘導の低下が認められた。またSmad2/3両欠損T細胞ではTh1の抑制がほとんど見られないことからTGF β によるTh1抑制にはSmad2/3のシグナルが重要であることがわかった。またFoxp3の誘導にもSmad2とSmad3両者が必要であることがわかった。

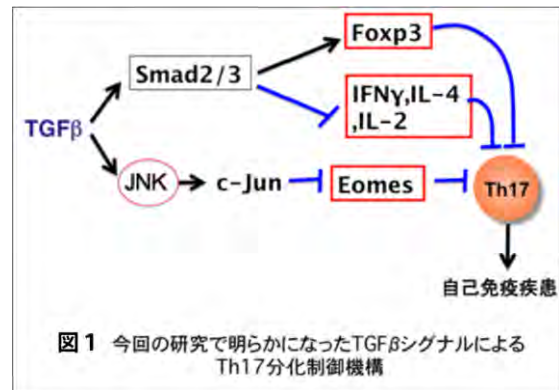


図1 今回の研究で明らかになったTGF β シグナルによるTh17分化制御機構

さらにFoxp3欠損マウス由来のT細胞のTh1への誘導は依然としてTGF β で抑制され、かつFoxp3欠損マウスの致死的な自己免疫疾患はTGF β の頻回投与によって抑制されたことから、TGF β の免疫抑制作用にはFoxp3以外の機構も重要であることが示唆された。一方でTh17分化誘導条件(TGF β + IL-6)ではROR γ tはSmad2/3両欠損マウスでも正常に誘導された。ROR γ tの誘導はSmad2/3非依存的であると結論できた。以上のT細胞におけるTGF β シグナルの機能について図1にまとめた。

(2) 次にTGF β のSmad非依存経路を明らかにすべく野生型と同様にSmad2/3両欠損したT細胞でTGF β によって発現が上下する遺伝子数個を選択した。これらをT細胞に強制発現することでTh17細胞への分化に影響を与えるものを選択した。これらのなかでEomesodermin(Eomes)遺伝子がTh17細胞では発現を抑えられ、他のTh1細胞やTh2細胞では抑えられないことを突き止めた。そこで、Eomesを未熟なT細胞に人為的に発現させたところ、Th17細胞の誘導が著しく減少した。

逆にEomesの発現を抑えたT細胞ではTGF β を加えなくてもROR γ tやIL-17が誘導された。ROR γ tやIL-17遺伝子のプロモーター解析からEomesは、Th17分化に最も重要なROR γ tやIL-17Aの遺伝子のプロモーターに結合して発現を抑制していることが分かった。

次に、T細胞でどのようなシグナルがEomesの発現をコントロールしているのかを調べた。様々なシグナル阻害薬を検討したところ、JNKの阻害剤がTGF β によるEomesの発現抑制が解除されることが分かった。またJNKを阻害することでTh17細胞が減少することも分かった。そこでJNK阻害剤を実験的自己免疫性脳脊髄炎モデル(EAE)に適用したところ、予想通りJNK阻害剤は実験的自己免疫性脳脊髄炎の症状を著しく改善した。JNKは、c-Junを介して機能を発揮することがわかった。すなわち、TGF β $\rightarrow$ JNK $\rightarrow$ c-Jun $\rightarrow$ Eomesの抑制 $\rightarrow$ Th17細胞分化誘導という新規メカニズムが存在することが示された(図1)。本研究成果は、Ichiyama et al. *Immunity*. 2011 May 27;34(5):741-54.にて報告した。

(3) TGF β によるIL-2のエピジェネティックな転写抑制機構の解明に取り組んだ。TGF β の重要な機能のひとつはnaïve T細胞にFoxp3を誘導するだけでなくIL-2の産生を抑制することであり、この作用がTh1やTh2の抑制に重要と考えられる。まずSmadによるIL-2の転写抑制機構を明らかにするために、Smad2およびSmad3欠損T細胞を用いてIL-2 promoterのヒストン修飾の状態をクロマチン免疫沈降法(ChIP assay)によって調べた。その結果、転写抑制性のヒストン修飾であるヒストンH3のリジンK9のトリメチル化(H3K9me3)がSmad2/3に依存して誘導されることを明らかにした。さらにSmadがヒストンH3K9メチル化酵素であるSuv39h1をリクルートすることでIL-2転写を抑制することを確認した。本成果は *J.Biol.Chem.* (2011 Oct 14;286(41):35456-65.) 誌に発表した。

(4)近年になって新しく発見されたIL-9産生T細胞(Th9)の分化にもTGF β が必要であることが報告されている。IL-9はアレルギー性喘息やアトピー性皮膚炎、寄生虫感染に関わっているサイトカインである。Th9細胞はほかのヘルパーT細胞の分化と同様に抗原提示細胞からT細胞受容体の刺激を受け取り、さらにIL-4およびTGF β の刺激によって分化が誘導される。一旦分化したTh2細胞からもTGF β の刺激によって分化可能であることが知られている。しかしながらTh9分化においてSmad2/3の必要性は明らかにされておらず、IL-9産生の詳しいメカニズムはわかっていない。

図1のようにTGF β 依存性IL-9産生はSmad2欠損Smad3ヘテロ(Smad2^{-/-}Smad3^{+/+})マウスT細胞で

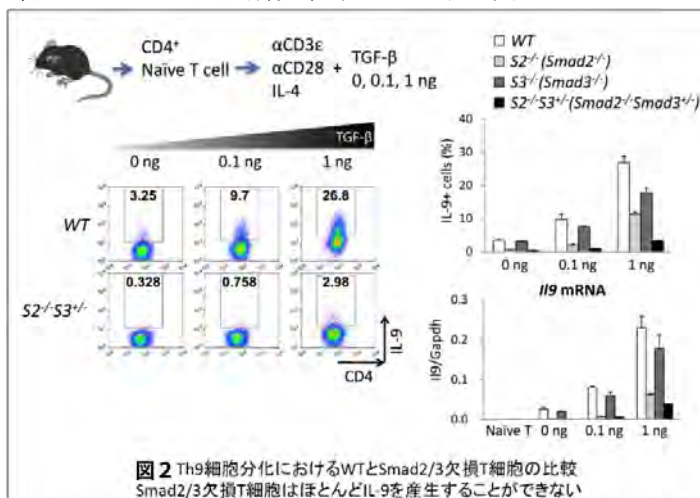


図2 Th9細胞分化におけるWTとSmad2/3欠損T細胞の比較
Smad2/3欠損細胞はほとんどIL-9を産生することができない

はほぼ完全にIL-9産生能が失われていた。さらにSmad2やSmad3単独欠損マウスT細胞では部分的にしか減少しないことから、Smad2/3はIL-9産生において必要不可欠であり、Smad2とSmad3は互いに重複性をもっていることが考えられた(図2)。IL-9 promoter上のヒストン修飾をクロマチン免疫沈降法(ChIP assay)を用いて解析を行ったところ、Th9において遺伝子転写促進性のヒストンH3アセチル化(AcH3)やヒストンH3リジンK4トリメチル化(H3K4me3)がTh2と比較し増加していることが確認された。さらにSamd2^{-/-}Samd2^{+/+}Th9ではAcH3およびH3K4me3が大幅に減弱しており、TGF β はSmad2/3を介してIL-9 promoter上において転写促進性のヒストン修飾を誘導していることが示された。

次にSmad2/3がどのような分子と協調して働いているかを調べた。転写因子であるIRF4がTh9分化に必要な不可欠であることは既に報告されている。Th9においてIRF4とSmad2/3がIL-9 promoter上の同じ領域に結合しており、さらに免疫沈降法によって両者が互いに結合していることが確認された。IRF4KOマウスを使った実験ではIRF4KO Th9においてIL-9 promoter上に

Smad2/3 がリクルートできず、Smad2/3 のリクルートは TGF- β および IRF4 に依存していることが明らかになった(図3)。

IL-9 はアレルギー性喘息の病態悪化に関与していることから、T細胞特異的 Smad2/3 欠損マウス(LckCreSmad2^{fl/fl}Samd3^{+/+}) (cKO マウス)デルを行った(図 2)。WT と比較し cKO マウスにおいて肺胞洗浄液中の浸潤細胞数と肺組織における粘液産生細胞数の現象が確認された。さらに喘息マウスより脾臓を採取し、OVA で脾細胞を刺激したところ、cKO マウス脾細胞において IL-9 の発現が著明に減少していた。よって cKO マウスでは T 細胞由来の IL-9 産生低下によって喘息症状が軽度になっていることが考えられた。

以上より、TGF- β -Smad2/3 シグナルは Th9 分化に必要不可欠であり、IRF4 と協調して IL-9 産生に働いていることが明らかになった(図 3)。免疫抑制性サイトカインとして知られる TGF- β -Smad2/3 シグナルが炎症性の細胞である Th9 分化に関わっていることは新たな発見である。この研究成果は *J.Immunol.*(doi:10.4049/jimmunol.1301276)に発表予定である。

④ 今後の展開

本研究グループは今回の結果から、Th17細胞分化を調節する新たなメカニズムを明らかにし、自己免疫疾患治療の標的となる酵素JNKを発見した。しかし、TGF- β がTh17細胞を誘導するメカニズムはまだ全容が解明されたわけではない。特にこれまで我々が同定したシグナルはすべて抑制系でありpositiveなシグナルは必ず存在すると思われる。今後も引き続きTGF- β がTh17細胞分化を誘導する機構の全容を明らかにするとともに、TGF- β のシグナルを標的とした自己免疫疾患の治療法の開発を進めたい。

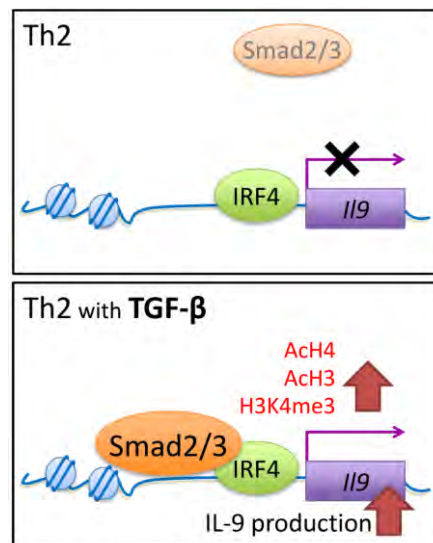


図3. T細胞におけるIL-9産生機構

4-5 JAK 阻害剤による免疫制御

① 研究のねらい

我々は SOCS1 や SOCS3 の研究から JAK 阻害は免疫を制御して疾患治療のよい標的になると考えて来た。最近 JAK 阻害剤がリウマチを含む免疫疾患に適応されようとしている。しかし JAK 阻害剤の作用機構は十分解明されておらず、副作用などの問題点も指摘されている。我々はマウスコラーゲン誘導性関節炎 (CIA) モデルにおいて tofacitinib (CP-690550) の有効性を証明した (Mori et al. *Int Immunol.* 23, 701-712, 2011)。Tofacitinib 投与によって血中 IL-6 レベルは低下し、関節滑膜細胞での STAT3 の活性化抑制、炎症や骨破壊の抑制が顕著に見られた。滑膜細胞は RANKL を発現し破骨細胞を活性化する。滑膜細胞や線維芽細胞においては IL-1 や TNF α の刺激によって RANKL の発現誘導が見られる。我々はこのとき STAT3 が活性化され、RANKL の誘導に必須の役割を果たすことを見いだした。IL-1 や TNF α は NF- κ B 経路を活性化するが STAT を直接活性化することは考えにくい。タンパク合成阻害剤や、抗 IL-6 抗体などの結果から IL-1 や TNF α は IL-6 の産生を誘導し、さらに IL-6 は STAT3 を活性化し、活性化 STAT3 が IL-6 と RANKL の発現を誘導する、いわゆる IL-6-STAT3 アンプが存在することが明らかとなった。本研究では既存の JAK 阻害剤の特に T 細胞に対する影響を明らかにするとともに、さらに Treg を増加させるような新規の阻害剤の開発をめざした。

② 研究実施方法

Tofacitinib、pyridone6 などの既存の JAK 阻害剤の T 細胞分化に及ぼす影響を調べた。また Ng/Nc マウスを用いたアトピー性皮膚炎モデル、EAE モデルを用いて治療効果を判定した。

③ 得られた成果

(1) Tofacitinib は低濃度では自己免疫性脳脊髄炎モデル (EAE) の発症を促進させた (*Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Feb 10;418(2):234-40 doi:10.1016/j.bbrc.2011.12.156). EAE は CIA よりも Th17 により強く依存する。そこで tofacitinib に T 細胞分化への影響を調べた。試験管内分化系では tofacitinib は高濃度ではすべての Th の分化を抑制し細胞増殖も阻害したが、低濃度では Th2 の抑制効果が強く、Th1 は若干の抑制し、Th17 はむしろ促進した。これは T 細胞においては低濃度 (10-100 nM) では STAT1, STAT4, STAT6 の活性化が抑制されるのに対して、STAT3 の抑制効果は弱いと考えられる (図)。先に述べたように通常では Th1/Th2 は Th17 を抑制する。したがって JAK 阻害剤によって Th1 や Th2 が先に抑制された分、Th17 は促進されたものと考えられる。同様の観察が Merck 社の JAK 阻害剤 pyridone6 でも観察された。JAK 阻害剤の微妙な JAK 特異性の違いがこのような効果を生んでいると思われるが詳細は不明である。

(2) しかし Th17 の促進による IL-17 や IL-22 の分泌促進は常在菌の感染を阻止し、角化細胞や上皮細胞の増殖を促進するために組織修復には有利と思われる。実際 Th2 型のアトピー性皮膚炎モデルや喘息モデルにおいては pyridone6-JAK 阻害剤はきわめて有効であることが示された。このとき予想通り Th2 型サイトカインは減少し IL-17 や IL-22 は増加していた (*J Immunol.* 2011 Nov 1;187(9):4611-20. doi:10.4049/jimmunol.1100649) (*Biochem Biophys Res Commun* 2011

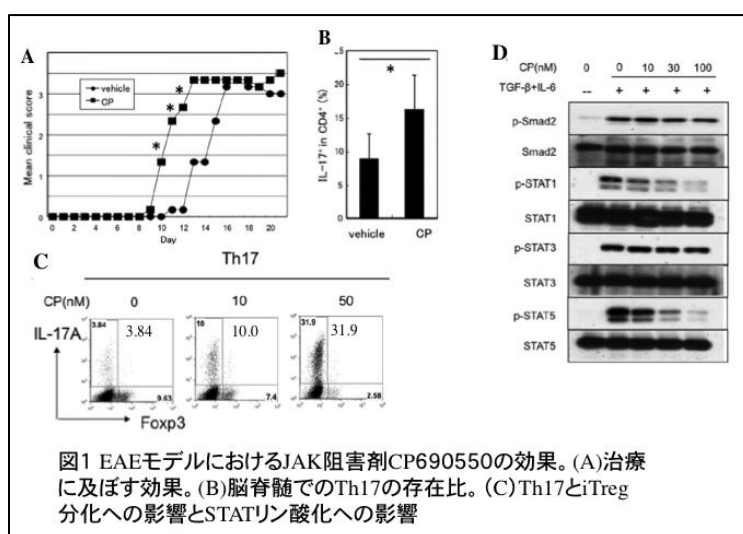


図1 EAEモデルにおけるJAK阻害剤CP690550の効果。(A)治療に及ぼす効果。(B)脳脊髄でのTh17の存在比。(C)Th17とTreg分化への影響とSTATリン酸化への影響

Jan 7;404(1):261-7 doi:10.1016/j.bbrc.2010.11.104)。IL-17やIL-22の直接の投与によってもアトピー性皮膚炎モデルは抑制された。すなわちTh17は強力活性化されすぎると乾癬などの自己免疫疾患を引き起こすが、適度に存在することでアトピー性皮膚炎を抑制することが示された。

4-6 PI3K-Akt-mTORC1 経路による Th17 細胞分化制御機構の解明

① 研究のねらい

PI3K は細胞の増殖や生存に重要な役割を果たす、脂質リン酸化酵素である。免疫系の細胞においても、B 細胞や肥満細胞の分化、樹状細胞からのサイトカイン産生制御など、様々な役割を担うことが示されている。本研究では、Th17 細胞の分化における PI3K およびその下流に存在する分子である Akt や mTOR の関与について解析し、PI3K-Akt-mTOR 経路によって Th17 分化をどのように制御できるかを検討する。

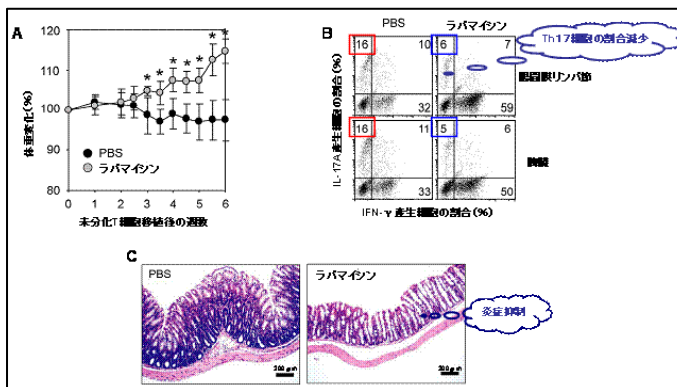
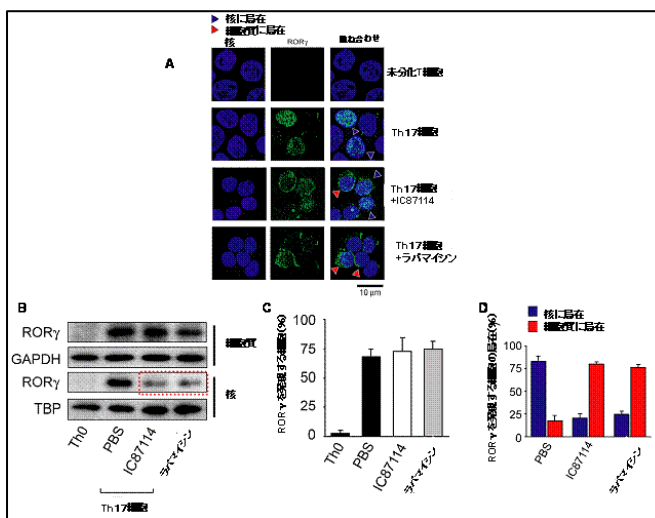
② 研究実施方法

単なる阻害剤を用いるだけでなく、クラス I PI3K の制御性サブユニットである p85 α を欠損するマウスなど、PI3K-Akt-mTORC1 経路に関わる分子の遺伝子改変マウス各種からナイーブ CD4⁺ T 細胞を単離し、これらを Th17 細胞に分化させて検討する。また、レンチウイルスを用いた強制発現系も使用し、PI3K-Akt-mTOR 経路が Th17 分化に及ぼす影響を分子レベルで解析する。

③ 当初の研究計画(全体研究計画書)に対する現在の研究進捗状況と得られた成果

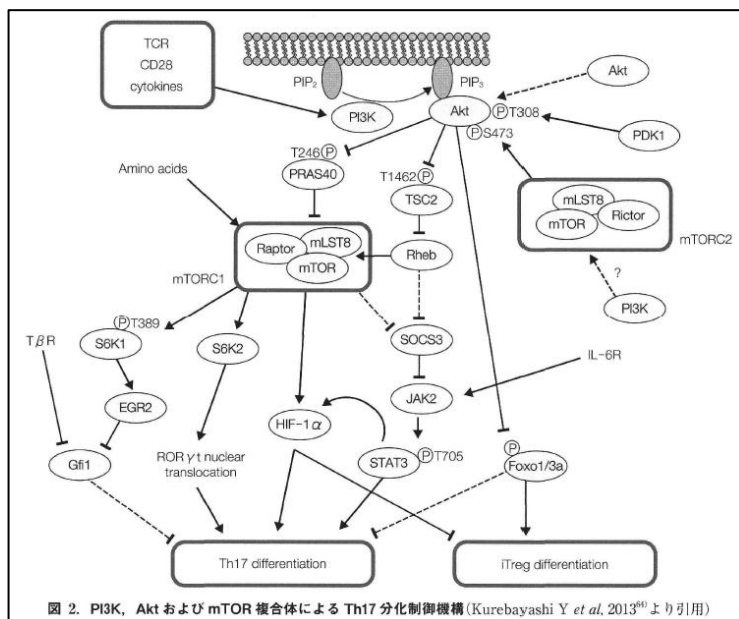
PI3K 阻害剤を用いた場合、あるいは PI3K の制御性サブユニットである p85 α を欠損するマウス(p85 α KO マウス)から単離したナイーブ CD4⁺ T 細胞を用いて Th17 細胞に分化させた場合、いずれにおいても Th17 細胞分化が抑制されることを明らかにした。一方これとは逆に、Akt の下流に存在する TSC2 分子の恒常活性化型を強制発現させた細胞では Th17 分化が促進し、Akt-mer (tamoxifen 処理により Akt シグナルを人為的に増強できる)マウス由来ナイーブ CD4⁺ T 細胞を用いた場合においても、tamoxifen 処理により Th17 細胞分化の促進が見られたことから、PI3K-Aktシグナルが、Th17分化を正に制御していることが示唆された。また、mTORC1の阻害剤であるrapamycinで処理するとTh17分化が抑制されることや、T細胞特異的にraptor(mTORC1構成分子の1つ)を欠損するマウス由来ナイーブ CD4⁺ T細胞を用いた場合においても同様に Th17 分化が阻害されることから、mTORC1 が Th17 分化に重要であることが明らかになった。以上の結果を合わせると、PI3K-Akt-mTORC1 経路が Th17 分化を正に制御していることが示唆された。

その詳細な分子メカニズムを探るため、Th17 細胞分化に重要な役割を果



たす STAT3 のリン酸化や、ROR α あるいは ROR γ といった *Il-17a* 遺伝子の転写に関わる分子の発現に関して検討を加えたが、PI3K 活性との相関が見られなかった。そこで発現そのものではなく、関連分子の細胞内局在について検討を加えたところ、PI3K 活性を阻害することにより *Il-17a* 遺伝子発現に重要な ROR γ の核移行が抑制されることを見出した。なお、Th1 あるいは Th2 の分化に必須の転写因子である T-bet あるいは GATA-3 は、PI3K 活性を阻害してもこれらの核移行が全く阻害されないことから、この現象は Th17 特異的なものであると考えられた。この核移行調節の分子メカニズムに迫るため、ROR γ の分子修飾について検討したところ、核移行した ROR γ はよりリン酸化を受けること、また PI3K 活性を抑制するとこのリン酸化が阻害されることを見出した。それでは PI3K-Akt-mTORC1 経路がどのようにして ROR γ のリン酸化および核移行に関与するかを検討した。そこでまず mTORC1 の基質である p70^{S6K} に着目した。レンチウイルスを用いて恒常活性型の p70^{S6K} を強制発現させた細胞では、たとえ rapamycin 処理して mTORC1 活性を阻害したとしてもその下流の p70^{S6K} は活性を保つが、この細胞では Th17 分化が促進し、かつ rapamycin 処理による影響を受けなかった。すなわち p70^{S6K} の活性が Th17 分化を正に制御することが明らかとなった。次に、p70^{S6K} がどのように ROR γ の核移行を制御するかについて検討を加えた。まず ROR γ が p70^{S6K} の基質となりうるかを *in vitro* kinase アッセイにより調べたが、p70^{S6K} は直接 ROR γ をリン酸化をしないことが明らかになった。しかしながら ROR γ がリン酸化される場を提供する可能性や、あるいは p70^{S6K} とともに核移行する可能性を考え、タグ付の ROR γ および p70^{S6K} を免疫沈降したところ、これらが直接結合することを確認した。現在は、ROR γ がどのような分子によってどの部位がリン酸化されるかを明らかにするとともに、p70^{S6K} による核移行メカニズムの検討を行っている。

一方、実際に *in vivo* においても PI3K-Akt-mTORC1 経路が Th17 分化に重要であるかを確かめるため、Th17 細胞が病態の増悪に関与すると考えられている、T 細胞移入による大腸炎モデルおよび実験的脳脊髄炎を用いて検証した。いずれのモデルにおいても、rapamycin を連日投与することによりその病態が軽減し、所属リンパ節内の Th17 細胞の割合が減少していたことから、mTORC1 活性を阻害することにより、生体内においても Th17 分化が阻害されることが明らかになった。以上の結果は論文として *Cell Reports* 誌に掲載され、複数の新聞に取り上げられた。さらに、*Ann NY Acad Sci* 誌および *Genes to Cells* 誌に総説が掲載された。



4-7 酸素分圧変化による Th17 細胞分化制御機構の解明 (慶應義塾大学 永井グループ)

① 研究のねらい

生体内における酸素分圧は、通常大気における濃度 (21%) に比べて低く、その濃度はリンパ節などの二次リンパ組織では 3~7% と低く、また炎症部位においては 1% 以下になるなど、様々な濃度をとると考えられている。しかしながら、ほとんどの *in vitro* 研究は 21% O₂, 5% CO₂ で行われており、これは真に生体内を反映しているとは言い難い。特に T 細胞はリンパ節において樹状細胞などにより抗原提示を受け、血流に乗って全身を巡り、炎症部位に到達してその機能を発揮するが、その間

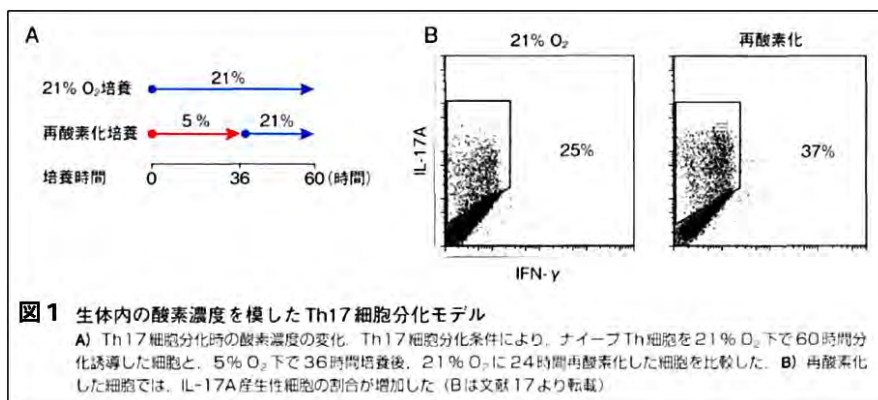
に劇的な酸素分圧の変化に曝される。例えば低酸素状態では HIF-1 α のような転写因子が働いて、様々な分子の転写活性を上げることが知られているため、上記のような酸素分圧の変化が細胞の分化・機能に影響を及ぼす可能性がある。すなわち、酸素分圧の変化によってヘルパー T 細胞の分化を制御できる可能性があるため、様々な酸素分圧における分化実験を行った。

② 研究実施方法

通常の CO₂ インキュベーターではなく、N₂ 充填により O₂ 濃度も制御できる O₂/CO₂ インキュベーターを用いることによって、酸素濃度を 1 から 21% まで変化させて、ヘルパー T 細胞の分化を行った。一般に、T 細胞が抗原提示を受けてリンパ節 (酸素分圧が約 5%) に留まっている時間がおよそ 36 時間であり、その後酸素の豊富な血流に乗って炎症部位へと流れると考えられるため、まず低酸素で 36 時間培養した後に、通常酸素下でさらに 24 時間培養するという条件で T 細胞を分化させ、通常酸素下で 60 時間培養した場合と比較することによって、酸素分圧変化の影響を解析した。

③ 当初の研究計画 (全体研究計画書) に対する現在の研究進捗状況と得られた成果

最初の 36 時間を低酸素 (1% or 5% O₂) で培養した後に通常酸素下でさらに 24 時間培養した場合の各種ヘルパー T 細胞の分化割合を、細胞内染色法にて比較検討した。すると Th1 細胞における IFN γ 産生細胞の割合、Th2



細胞における IL-4 産生細胞の割合、あるいは iTreg 細胞における Foxp3 発現細胞の割合について、両方で差が見られなかった。一方で、Th17 細胞からの IL-17A 産生細胞の割合は、再酸素化により有意に上昇した。また、*Il17a* の遺伝子発現を経時的に測定した結果、5% O₂ 培養時には通常酸素下での発現と差がないが、再酸素化した 36 時間目以降において通常酸素下の場合に比べて有意に発現が上昇することを見出した (図 1)。以上の結果から、5% O₂ から通常酸素下に移行するという酸素分圧の上昇によって、Th17 細胞特異的に IL-17A 産生が促進されることが明らかとなった。

そこでこの再酸素化による Th17 分化促進の分子メカニズムについて検討を加えた。我々は PI3K-mTORC1 経路が Th17 分化に関与することを見出しているため、mTORC1 がこの場合にも関与するかについて、基質である p70^{S6K} のリン酸化を指標に mTORC1 の活性を調べた。すると通常酸素下と比較して、36 時間目 (再酸素化直後) から既にリン酸化の亢進が見られ、この亢進は再酸素化から少なくとも 2 時間は持続していた。また、mTORC1 の阻害剤である rapamycin を予め加えておくと、通常酸素下であっても Th17 分化は阻害されるが、再酸素化による Th17 分化促進も見られなくなったことから、mTORC1 が関与することが示唆された。そこでさらに mTORC1 の上流で働いていることが知られている PI3K の関与について、PI3K 阻害剤である IC87114 や LY294002 処理を用いて検討したが、再酸素化による Th17 分化促進は阻害されなかった。以上の結果から、PI3K 非依存的に活性化された mTORC1 を介して、再酸素化による Th17 分化促進を引き起こしていることが示唆された。

また、低酸素時に誘導・安定化する転写因子 HIF-1 α の発現が mTORC1 によって制御されていることが明らかとなった。さらに HIF-1 α 欠損ナイーブ CD4⁺ T 細胞を用いて分化実験を行ったところ、再酸素化による Th17 分化促進が見られなくなり、それと同時に再酸素化による p70^{S6K} のリン酸化 (mTORC1 の活性化) が消失していた。以上のことから、Th17 分化において、低酸素により

HIF-1 α はmTORC1を介して発現が増強されるが、この発現したHIF-1 α が正のフィードバック機構によってさらにmTORC1を活性化することにより、Th17分化を促進することが強く示唆された。これらの成果は論文として *International Immunology* 誌に発表した。

4-8. PGE2/cAMP および Smad2 による樹状細胞を介した寛容の誘導機構 (慶應義塾大学 吉村グループ)

① 研究のねらい

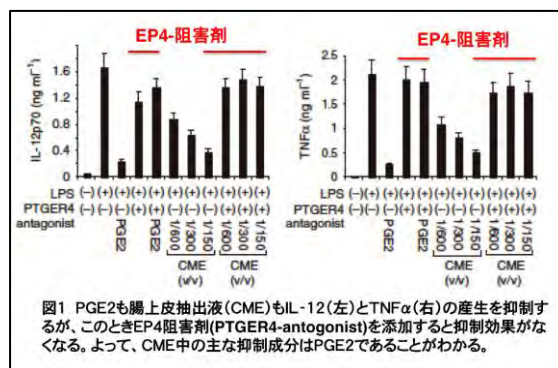
樹状細胞からの炎症性サイトカインの産生は免疫を正に推進するが、抑制性 T 細胞(Treg)からの IL-10 や TGF β はこの過程を負に制御する。本研究ではこれら以外の抑制機構の発見とその分子機構の解明を行い、新たな樹状細胞を介した寛容誘導の方法を開発する。

② 研究実施方法

樹状細胞(骨髄由来 BMDC)やマクロファージを LPS(エンドトキシン)で刺激すると炎症性サイトカイン(主に TNF α や IL-12)が大量に分泌される。この系に Treg や腸上皮細胞、あるいは腸上皮組織抽出液(CME)を添加すると炎症性サイトカイン産生の抑制が認められた。この系を用いて Treg や腸由来の炎症性サイトカイン産生抑制因子の同定を行ったところ、Treg からの抑制因子は主に IL-10 であり、腸上皮からの抑制因子はプロスタグランジン E2(PGE2)であることを見いだした。さらに PGE2 の生体での機能を明らかにするためにインドメタシン投与によって PGE2 の産生を抑制した場合の効果を検討した。さらに PGE2 がどのように炎症性サイトカインの産生を抑制するのか、分子レベルでの解明を行った。

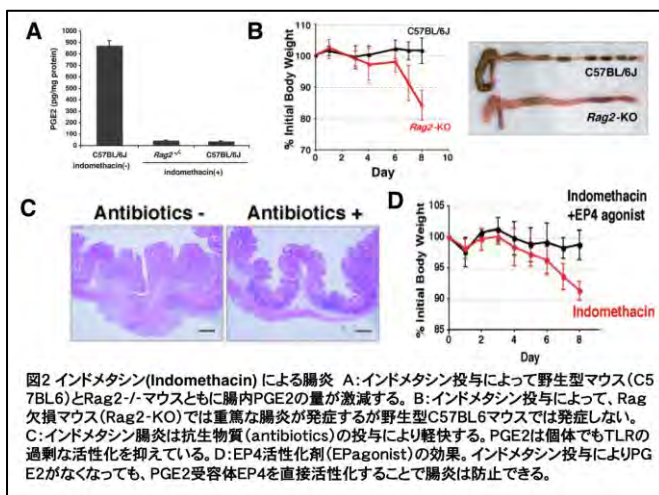
③ 得られた成果

(1)樹状細胞やマクロファージを LPS(エンドトキシン) 樹状細胞をLPSで刺激すると炎症性サイトカインが大量に分泌される。Treg の共培養では IL-10 に依存してサイトカイン産生が抑制される。我々は腸上皮細胞培養液や腸抽出液(CME)には IL-10 とは異なる炎症性サイトカイン産生を強力に抑制する物質が存在していることを見いだした。部分精製の結果、この物質はプロスタグランジン E2(PGE2)であると考えられた。それを確かめるために、樹状細胞における主な PGE2 受容体である EP4の阻害剤を添加したところ、腸抽出液のサイトカイン産生を抑制する能力はほぼ完全になくなった。これらの結果から、腸由来のサイトカイン産生抑制分子は PGE2 であると証明された(図1)。



次にマウスの体内でも、腸炎抑制に PGE2 が重要であることを示すために、Rag2 欠損マウスに非

ステロイド系抗炎症剤(NSAID)の一種インドメタシンを投与したところ、PGE2 の腸内レベルはほぼゼロにまで低下した。インドメタシン投与によって野生型マウスは全く影響を受けなかったが Rag2 欠損マウスは致命的な極めて重篤な腸炎を発症した(図2AB)。この腸炎は、抗生物質の投与により腸内細菌をなくすことで発症しなくなり(図2C)、PGE2 受容体EP4の活性化剤(アゴニスト)の投与によって軽快した(図2D)。これらの結果は、PGE2-EP4経路がマウス内でも、腸内細

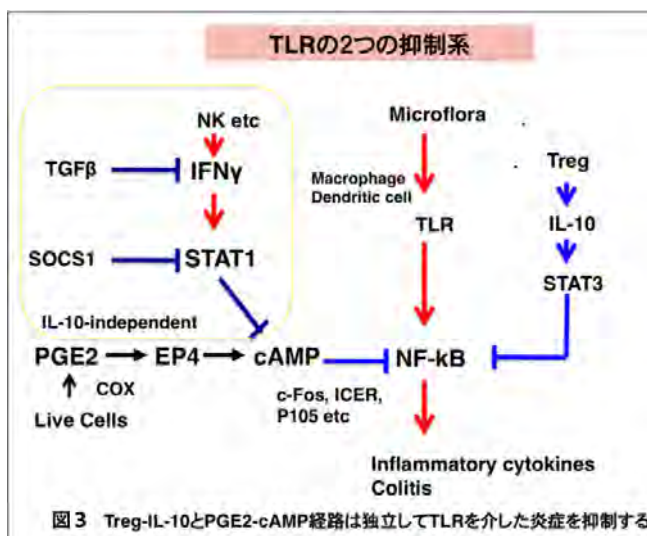


菌によって発症する腸炎の抑制に必要であることを支持する。

一方、Treg の存在する野生型のマウスではインドメタシン投与によって腸炎を起こさないことから、Treg は PGE2 と独立して腸炎を抑制していると考えられる。そこで、欠損マウスに Treg を移入してインドメタシンを投与したところ、Rag2 でのインドメタシン腸炎は軽快した。さらに、IL-10 を欠損する Treg にはこのような抑制効果は認められなかった。よって、Treg による腸炎抑制は IL-10 を介していること、また PGE2-EP4 経路は Treg-IL-10 経路とは独立して機能する抑制システムであることが生体内でも確認された。

では腸炎を発症する時はこの経路はどのように破綻しているか？ Rag/SOCS1 欠損マウスでも Rag 欠損マウスにインドメタシン投与と非常によく似た腸炎を発症することから SOCS1 が PGE2-EP4 経路の重要な調節因子であることが示唆された。試験管内の解析の結果、SOCS1 欠損樹状細胞は IFN γ 存在下では STAT1 が過剰に活性化されており PGE2 による TLR 経路の抑制能が破綻していることがわかった。STAT1 欠損樹状細胞では PGE2 の作用が増強され IFN γ による解除効果も認められなかった。したがって IFN γ —STAT1 経路は抗炎症経路 PGE2-EP4 を抑制することが明らかとなった。一方 IL-10 による抑制は IFN γ や SOCS1 欠損の影響を受けなかった。すなわち過剰な IFN γ およびそのシグナルが腸炎を促進するメカニズムのひとつは EP4 シグナルの抑制である。以上のスキームを図3に示す。

これらの成果は *Nature Commun.* 2011 Feb;2:190. doi:10.1038/ncomms1181 に公表した。

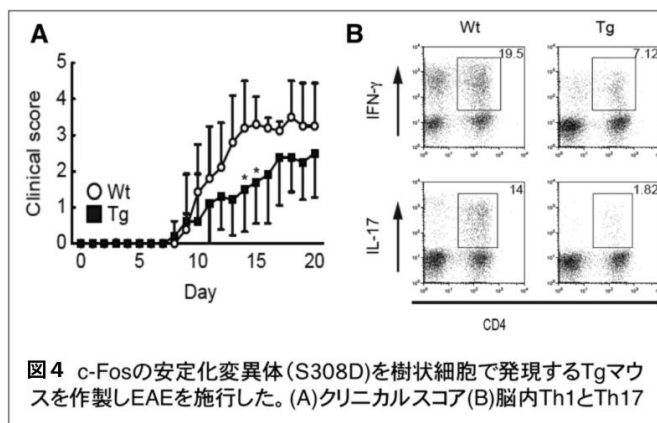


(2) 次に PGE2 が TNF α などのサイトカイン産生を抑制するのか分子機構の解明を行った。

PGE2 は EP4 受容体を介して細胞内の cAMP (cyclic adenosine monophosphate) 濃度を上昇させる。まずタンパク合成阻害剤シクロヘキシミドの効果から cAMP が抑制効果を発揮するためには新規タンパク合成が必要と考えられた。そこでマイクロアレイ解析を行った結果、我々は *c-fos* を cAMP による抑制効果を担う因子の候補として同定した。*c-fos* 遺伝子をマクロファージ系の細胞 (Raw 細胞) に強制発現することで LPS による TNF α の誘導を強力に抑制することができた。逆に siRNA により c-Fos 発現を抑制すると cAMP の抑制効果が失われた。

c-Fos は炎症性遺伝子の発現に必須な転写因子 NF- κ B の p65 サブユニットと直接結合することによって、p65 が炎症性遺伝子の DNA プロモーター領域と結合できなくなり、その結果、遺伝子の転写・発現が抑制されることを明らかにした。さらに我々は LPS または cAMP 単独刺激と比較して

LPS+cAMP 共刺激によって、c-Fos タンパク質レベルが極めて増加することを見いだした。c-Fos の mRNA 発現誘導には cAMP 刺激のみで十分であるが、c-Fos タンパク質の誘導・蓄積には LPS の下流で活性化され、NF- κ B の活性化に必須なキナーゼである IKK β が必要であることが分かった。さらなる解析の結果、IKK β は c-Fos タンパク質の 308 番目のセリン残基をリン酸化し、その結果 c-Fos タンパク質が安定化する、という新たな知見を得た。炎症性遺伝子の発現に必須であり、炎症性遺



伝子発現を正に制御しているIKK β がc-Fosタンパク質の安定化に寄与することで、炎症性遺伝子発現を負に制御するという、新規のネガティブフィードバック機構が存在するものと考えられる。この成果は *Immunity* 2009 Mar;30(3):372-83. に発表した。またc-Fosの安定化変異体を樹状細胞で発現するTgマウスを作製したところ予想通りEAEが軽減するなど免疫抑制的に働くことが確認された (*Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Jun 29;423(2):247-52. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.05.097.) (図4)。一方でTregの増加は認められず個体レベルでは本経路のTregへの影響は限定的であることが示唆された。

④ 今後の展開

抑制性樹状細胞は抗原特異的免疫抑制を誘導する効果的な手段となりうる。今後は cAMP と Smad2 抑制を組み合わせることにより強力な免疫寛容が誘導できないか検討する。

4-9. 虚血疾患におけるサイトカインおよびサイトカイン産生細胞の新機能の発見

① 研究のねらい

近年、さまざまな疾患において炎症の重要性が指摘されている。特に自然免疫のみならず獲得免疫系も傷害の進行に重要な役割を果たす。本研究ではサイトカインによる T 細胞の正の応答制御も重要な研究課題としており、これまで炎症が重要と言われながら詳細が不明であった疾患におけるサイトカインや T 細胞の役割を明らかにする。本研究では特に脳梗塞モデルを持って T 細胞を含めた炎症細胞の役割を中心に、虚血による炎症のメカニズムを解明し、新たな神経保護療法の開発をめざす。

② 研究実施方法

マウスモデルでは中大脳動脈にナイロン糸を塞栓させることにより血流を止めた後に、糸を抜いて再還流するモデルが汎用されている。FACS 解析によって脳梗塞発症後 1 日目にマクロファージが、その後 2-3 日目にかけて T 細胞が脳組織内に浸潤することがわかった。脳梗塞体積は脳組織切片の MAP 染色もしくは TTC 染色によって計測を行った。様々なノックアウトマウスを用いて虚血後脳内炎症におけるサイトカインとサイトカイン産生細胞の意義を調べた。また骨髄由来樹状細胞 (BMDC) における IL-23 誘導活性を指標に新規 DAMPs の同定を行った。

③ 得られた成果

FTY720 (Fingolimod) は炎症組織へ T 細胞が浸潤するのを抑制することで知られる免疫抑制剤であるが、FTY720 は脳梗塞部位への T 細胞の浸潤を減らし、発症 4 日目の脳梗塞体積を有意に縮小することが分かった。これらの結果から脳内に T 細胞が浸潤することが脳梗塞の病態の進行に重要であると考えられた。

次にどの炎症性サイトカインが病態の進展に重要かを調べるために、IL-23、IL-17、IFN γ 、IL-6 の遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて脳虚血モデルを作成し、脳梗塞体積を比較した。その結果、IL-23 KO マウスおよび IL-17 KO マウスでは梗塞体積が縮小が認められた。IFN γ や IL-6 KO マウスでは有意な梗塞体積の変化が認められなかった。サイトカインの産生細胞と時間経過を調べたところ、脳虚血早期にマクロファージが産生する IL-23 が、脳虚血遅延期に浸潤する $\gamma \delta$ T 細胞を刺激して IL-17 産生を誘導していると考えられた。脳虚血早期に脳内に浸潤したマクロファージは IL-23 を産生し、遅れて亜急性期に浸潤した $\gamma \delta$ T 細胞に働いて IL-17 産生を誘導する。IL-23 や IL-17 は脳内の炎症性因子の発現を促進して病態の悪化に寄与していると考えられ、一連の連続的なメカニズムによって脳虚血による組織障害が進行することが判明した (図 1)。これらの発見が新規の治療法の開発につながることを期待される。以上の成果は *Nature Med.* 2009 Aug;15(8):946-50. doi:10.1038/nm.1999 に発表した。

次に浸潤マクロファージから IL-23 が産生されるメカニズムの解明を行った。TLR2/4 両欠損マウスでは梗塞体積が大きく減少することから、虚血によって何らかの物質が産生され TLR2, TLR4 を介して浸潤マクロファージを活性化させ IL-23 を誘導することが示唆された。最近、様々な死細胞由

来の成分が TLR を活性化できることが注目されている。これらはダメージ関連分子パターン (damage-associated molecular patterns: DAMPs) として知られており、脳由来の物質としては high mobility group box 1 (HMGB1) が詳細に研究されてきた。虚血後 2~4 時間で神経細胞から HMGB1 が放出され主に血管内皮細胞に作用して脳血液関門の破綻に関与し、組織傷害を進行させることが報告されている。しかし抗体による中和実験から HMGB1 はサイトカイン産生には大きな寄与はしていないことがわかった。そこで骨髄由来樹状細胞を用いて新規脳内 DAMPs の検索を行った。脳抽出液を分画し、質量分析によって解析し DAMPs の候補分子を 30 個ほど選別した。得られた候補タンパクの組み替え体を作成し活性を調べたところ、peroxiredoxin (Prx)ファミリータンパクが強力に樹状細胞を活性化して炎症性サイトカインを産生させることを発見した。

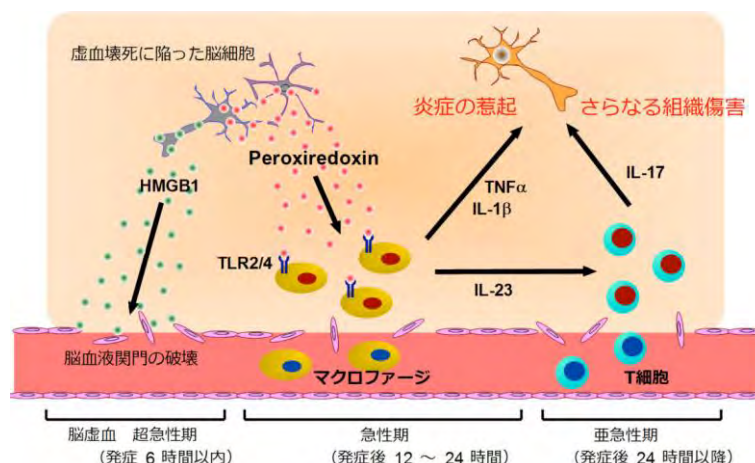
虚血によって脳組織では発症 12 時間後から Prx の発現が急激に上昇し、虚血壊死によって細胞が破壊された際に細胞外に放出され TLR を活性化すると考えられた。Prx 中和抗体を脳虚血モデルマウスに投与したところ IL-23 や IL-1 β 、TNF- α などの炎症性サイトカイン産生が抑制された。Prx 中和の効果は TLR2.4 依存性であった。よって Prx は浸潤マクロファージを直接的に活性化し、炎症性サイトカインを産生誘導することによって炎症惹起に働く、第 2 の DAMPs であると考えられた。本成果は *Nature Medicine* 2012 Jun;18(6):911-7. doi: 10.1038/nm.2749. に報告した。

以上のように脳虚血後炎症は、虚血壊死に陥った脳細胞から HMGB-1 や Prx が放出されることに始まり、脳内に浸潤したマクロファージが活性化されて炎症性サイトカインが産生され、さらに γ δ T 細胞の浸潤によって炎症が促進される。これら一連の炎症メカニズムを標的として新規の脳保護療法が開発されることが期待される。以上の成果を図にまとめた。

④今後の展開

本研究で示されたように IL-23-IL-17 や γ δ T 細胞を標的とした脳梗塞治療法の開発が期待できることが示された。実際に我々は抗 p40 抗体 (IL-12, IL-23 両者をブロックする) が脳梗塞モデルの神経症状を著しく改善することを報告している (*Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Nov 19;402(3):500-6.

doi:10.1016/j.bbrc.2010.10.058)。一方、抗炎症に作用する細胞やサイトカインを利用する試みもなされている。脳虚血における炎症とその終息過程がより精密に理解され、新しい治療戦略が提示されることが期待される。



4-10 新しいリンパ組織と新規リンパ球、ナチュラルヘルパーの発見

Th17 や Treg の制御ならびに HIF-1 α の解析には腸管が注目されたため、腸管の免疫関連組織を精査したところ、腸間膜をはじめとする腹腔内の脂肪組織にこれまでに報告がなかったリンパ球集積を発見し、FALC (fat-associated lymphoid cluster) を名付けた。この構造はヒトにもみられた。さらに FALC 中に、分化マーカーを発現せず、c-Kit 陽性、Sca-1 陽性、IL-7 受容体陽性、IL-33 受容体陽性の細胞を見だし、この細胞の機能を精査した。その結果、この細胞群が IL-2 に反応して増殖し、恒常的に IL-5 や IL-13 などの Th2 型のサイトカインを発現することで腹腔内の B1 細胞の増殖維持に重要な役割を果たすこと、また寄生虫感染時の初期に T 細胞とは独立に Th2 サイトカイン、特に IL-13 を高発現し、腸管上皮の杯細胞の過形成を通じて初期の寄生虫感染防御に機能すること、などを明らかにした。これらの性質からこの細胞群は新たなリンパ球サブセットと考えられたことから、「ナチュラルヘルパー細胞」と名付けた。この研究は、その後参加者の茂呂がさがけに採択されたことから、そちらへスピンアウトすることとなった。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 90 件)

吉村グループ

1. Koga K, Takaesu G, Yoshida R, Nakaya M, Kobayashi T, Kinjo I, Yoshimura A. Cyclic adenosine monophosphate suppresses the transcription of proinflammatory cytokines via the c-Fos protein phosphorylated by IKKbeta. *Immunity*. 2009 Mar;30(3):372-83.
2. Lu LF, Thai TH, Calado DP, Chaudhry A, Kubo M, Tanaka K, Loeb GB, Lee H, Yoshimura A, Rajewsky K, Rudensky AY. Foxp3-dependent microRNA155 confers competitive fitness to regulatory T cells by targeting SOCS1 protein. *Immunity*. 2009 Jan;30(1):80-91
3. Taniguchi K, Sasaki K, Watari K, Yasukawa H, Imaizumi T, Ayada T, Okamoto F, Ishizaki T, Kato R, Kohno R, Kimura H, Sato Y, Ono M, Yonemitsu Y, Yoshimura A. Suppression of Sproutys has a therapeutic effect for a mouse model of ischemia by enhancing angiogenesis. *PLoS ONE*. 2009;4(5):e5467. doi: 10.1371/journal.pone.0005467
4. Hashimoto M, Ayada T, Kinjo I, Hiwatashi K, Yoshida H, Okada Y, Kobayashi T and Yoshimura A. Silencing of *SOCS1* in macrophages suppresses tumor development by enhancing antitumor inflammation. *Cancer Sci* 2009 Apr;100(4):730-6. doi:10.1111/j.1349-7006.2009.01098.x
5. Saeki K, Fukuyama S, Ayada T, Nakaya M, Aki D, Takaesu G, Hanada T, Matsumura Y, Kobayashi T, Nakagawa R, Yoshimura A. A major lipid raft protein raftlin modulates T cell receptor signaling and enhances Th17-mediated autoimmune responses. *J Immunol*. 2009 May 15;182(10):5929-37. doi:10.4049/jimmunol.0802672
6. Fukuyama S, Nakano T, Matsumoto T, Oliver BG, Burgess JK, Moriwaki A, Tanaka K, Kubo M, Hoshino T, Tanaka H, McKenzie AN, Matsumoto K, Aizawa H, Nakanishi Y, Yoshimura A, Black JL, Inoue H. Pulmonary Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS)-1 Induced by IL-13 Regulates Allergic Asthmatic Phenotype. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Jun 1;179(11):992-8. doi: 10.1164/rccm.200806-992OC
7. Mori H, Inoki K, Masutani K, Wakabayashi Y, Komai K, Nakagawa R, Guan KL, Yoshimura A. The mTOR pathway is highly activated in Diabetic Nephropathy and Rapamycin has a strong therapeutic potential. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 Jul 10;384(4):471-5. doi:10.1016/j.bbrc.2009.04.136
8. Ichiyama K, Hashimoto M, Sekiya T, Nakagawa R, Wakabayashi Y, Sugiyama Y, Komai K, Saba I, Möry T, Yoshimura A. Gfi1 negatively regulates T(h)17 differentiation by inhibiting RORgamma activity. *Int Immunol*. 2009 Jul;21(7):881-9. doi:10.1093/intimm/dxp054
9. Shichita T, Sugiyama Y, Ooboshi H, Sugimori H, Nakagawa R, Takada I, Iwaki T, Okada Y, Iida M, Cua DJ, Iwakura Y, Yoshimura A. Pivotal role of cerebral interleukin-17-producing gammadeltaT cells in the delayed phase of ischemic brain injury. *Nature Med*. 2009 Aug;15(8):946-50. doi:10.1038/nm.1999
10. Taniguchi K, Ishizaki T, Ayada T, Sugiyama Y, Wakabayashi Y, Sekiya T, Nakagawa R, Yoshimura A. Sprouty4 deficiency potentiates Ras-independent angiogenic signals and tumor growth. *Cancer Sci*. 2009 Sep;100(9):1648-54 doi:10.1111/j.1349-7006.2009.01214.x
11. Taleb S, Romain M, Ramkhalawon B, Uyttenhove C, Pasterkamp G, Herbin O,

Esposito B, Perez N, Yasukawa H, Van Snick J, Yoshimura A, Tedgui A, Mallat Z. Loss of SOCS3 expression in T cells reveals a regulatory role for interleukin-17 in atherosclerosis. *J Exp Med*. 2009 Sep 28;206(10):2067-77. doi:10.1084/jem.20090545

12. Messiaen L, Yao S, Brems H, Callens T, Sathienkijkanhai A, Denayer E, Spencer E, Arn P, Babovic-Vuksanovic D, Bay C, Bobele G, Cohen BH, Escobar L, Eunpu D, Grebe T, Greenstein R, Hachen R, Irons M, Kronn D, Lemire E, Leppig K, Lim C, McDonald M, Narayanan V, Pearn A, Pedersen R, Powell B, Shapiro LR, Skidmore D, Tegay D, Thiese H, Zackai EH, Vijzelaar R, Taniguchi K, Ayada T, Okamoto F, Yoshimura A, Parret A, Korf B, Legius E. Clinical and mutational spectrum of Legius syndrome *JAMA* 2009 Nov 18;302(19):2111-8. doi:10.1001/jama.2009.1663

13. Nakaya M, Hashimoto M, Nakagawa R, Wakabayashi Y, Ishizaki T, Takada I, Komai K, Yoshida H, Yoshimura A. SOCS3 in T and NKT cells negatively regulates cytokine production and ameliorates ConA-induced hepatitis. *J Immunol*. 2009 Dec 1;183(11):7047-53. doi:10.4049/jimmunol.0900547

14. Sekine Y, Ikeda O, Tsuji S, Yamamoto C, Muromoto R, Nanbo A, Oritani K, Yoshimura A, Matsuda T. Signal-Transducing Adaptor Protein-2 Regulates Stromal Cell-Derived Factor-1{alpha}-Induced Chemotaxis in T Cells. *J Immunol*. 2009 Dec 15;183(12):7966-74. doi:10.4049/jimmunol.0902096

15. Takimoto T, Wakabayashi Y, Sekiya T, Inoue N, Morita R, Ichiyama K, Takahashi R, Asakawa M, Muto G, Mori T, Hasegawa E, Shizuya S, Hara T, Nomura M, Yoshimura A. Smad2 and Smad3 are redundantly essential for the TGF-beta-mediated regulation of regulatory T plasticity and Th1 development. *J Immunol*. 2010 Jul 15;185(2):842-55. doi:10.4049/jimmunol.0904100

16. Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, Lin LL, Taganov KD, Hanada T, Yoshimura A, Baltimore D, Rudensky AY. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell*. 2010 Sep 17;142(6):914-29. doi:10.1016/j.cell.2010.08.012

17. Tanaka KA, Suzuki KG, Shirai YM, Shibutani ST, Miyahara MS, Tsuboi H, Yahara M, Yoshimura A, Mayor S, Fujiwara TK, Kusumi A. Membrane molecules mobile even after chemical fixation. *Nature Methods*. 2010 Nov;7(11):865-6. Epub 2010 Oct 3. doi:10.1038/nmeth.f.314

18. Yan C, Cao J, Wu M, Zhang W, Jiang T, Yoshimura A, Gao H. Suppressors of cytokine signaling 3 inhibits LPS-induced IL-6 expression in osteoblasts by suppressing CCAAT/enhancer-binding protein {beta} activity. *J Biol Chem*. 2010 Nov 26;285(48):37227-39. doi: 10.1074/jbc.M110.132084

19. Ishida H, Matsuzaki-Moriya C, Imai T, Yanagisawa K, Nojima Y, Suzue K, Hirai M, Iwakura Y, Yoshimura A, Hamano S, Shimokawa C, Hisaeda H. Development of experimental cerebral malaria is independent of IL-23 and IL-17. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Nov 26;402(4):790-5. doi:10.1016/j.bbrc.2010.10.114

20. Konoeda F, Shichita T, Yoshida H, Sugiyama Y, Muto G, Hasegawa E, Morita R, Suzuki N, Yoshimura A. Therapeutic effect of IL-12/23 and their signaling pathway blockade on brain ischemia model. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010 Nov 19;402(3):500-6. doi:10.1016/j.bbrc.2010.10.058

21. Ikeda O, Sekine Y, Mizushima A, Nakasuji M, Miyasaka Y, Yamamoto C, Muromoto R, Nanbo A, Oritani K, Yoshimura A, Matsuda T. Interactions of STAP-2 with Brk and

STAT3 participate in cell growth of human breast cancer cells. *J Biol Chem*. 2010 Dec 3;285(49):38093-103. doi: 10.1074/jbc.M110.162388

22. Matsunaga Y, Inoue H, Fukuyama S, Yoshida H, Moriwaki A, Matsumoto T, Matsumoto K, Asai Y, Kubo M, Yoshimura A, Nakanishi Y. Effects of a Janus kinase inhibitor, pyridone 6, on airway responses in a murine model of asthma. *Biochem Biophys Res Commun* 2011 Jan 7;404(1):261-7 doi:10.1016/j.bbrc.2010.11.104

23. Miyamoto R, Jijiwa M, Asai M, Kawai K, Ishida-Takagishi M, Mii S, Asai N, Enomoto A, Murakumo Y, Yoshimura A, Takahashi M. Loss of Sprouty2 partially rescues renal hypoplasia and stomach hypoganglionosis but not intestinal aganglionosis in Ret Y1062F mutant mice. *Dev Biol*. 2011 Jan 15;349(2):160-8. doi:10.1016/j.ydbio.2010.11.002

24. Matsumura K, Taketomi T, Yoshizaki K, Arai S, Sanui T, Yoshiga D, Yoshimura A, Nakamura S. Sprouty2 controls proliferation of palate mesenchymal cells via fibroblast growth factor signaling. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Jan 28;404(4):1076-82. doi:10.1016/j.bbrc.2010.12.116

25. Denayer E, Chmara M, Brems H, Kievit AM, van Bever Y, Van den Ouweland AM, Van Minkelen R, de Goede-Bolder A, Oostenbrink R, Lakeman P, Beert E, Ishizaki T, Mori T, Keymolen K, Van den Ende J, Mangold E, Peltonen S, Brice G, Rankin J, Van Spaendonck-Zwarts KY, Yoshimura A, Legius E. Legius syndrome in fourteen families. *Hum Mutat*. 2011 Jan;32(1):E1985-98.DOI: 10.1002/humu.21404

26. Chinen T, Komai K, Muto G, Morita R, Inoue N, Yoshida H, Sekiya T, Yoshida R, Nakamura K, Takayanagi R, Yoshimura A. *Nature Commun*. 2011 Feb;2:190. doi:10.1038/ncomms1181

27. Nakaya M, Hamano S, Kawasumi M, Yoshida H, Yoshimura A, Kobayashi T. Aberrant IL-4 production by SOCS3-over-expressing T cells during infection with Leishmania major exacerbates disease manifestations. *Int Immunol*. 2011 Mar;23(3):195-202. doi: 10.1093/intimm/dxq472

28. Watanabe A, Tatematsu M, Saeki K, Shibata S, Shime H, Yoshimura A, Obuse C, Seya T, Matsumoto M. Raftlin Is Involved in the Nucleocapture Complex to Induce Poly(I:C)-mediated TLR3 Activation. *J Biol Chem*. 2011 Mar 25;286(12):10702-11. doi: 10.1074/jbc.M110.185793

29. Sekiya T, Kashiwagi I, Inoue N, Morita R, Hori S, Waldmann H, Rudensky AY, Ichinose H, Metzger D, Chambon P, Yoshimura A. The nuclear orphan receptor Nr4a2 induces Foxp3 and regulates differentiation of CD4(+) T cells. *Nature Commun*. 2011 Apr;2:269. doi:10.1038/ncomms1272

30. Lesina M, Kurkowski MU, Ludes K, Rose-John S, Treiber M, Klöppel G, Yoshimura A, Reindl W, Sipos B, Akira S, Schmid RM, Algül H. Stat3/Socs3 activation by IL-6 transsignaling promotes progression of pancreatic intraepithelial neoplasia and development of pancreatic cancer. *Cancer Cell*. 2011 Apr 12;19(4):456-69. DOI 10.1016/j.ccr.2011.03.009

31. Ichiyama K, Sekiya T, Inoue N, Tamiya T, Kashiwagi I, Kimura A, Morita R, Muto G, Shichita T, Takahashi R, Yoshimura A. Transcription Factor Smad-Independent T Helper 17 Cell Induction by Transforming-Growth Factor- β Is Mediated by Suppression of Eomesodermin. *Immunity*. 2011 May 27;34(5):741-54. DOI 10.1016/j.immuni.2011.02.021

32. Ishizaki T, Tamiya T, Taniguchi K, Morita R, Kato R, Okamoto F, Saeki K, Nomura M, Nojima Y, Yoshimura A. miR126 positively regulates mast cell proliferation and cytokine production through suppressing Spred1. *Genes Cells*. 2011 Jul;16(7):803-814. doi: 10.1111/j.1365-2443.2011.01529.x
33. Carow B, Qun Ye X, Gavier-Widén D, Bhujra S, Oehlmann W, Singh M, Sköld M, Ignatowicz L, Yoshimura A, Wigzell H, Rottenberg ME. Silencing Suppressor of Cytokine Signaling-1 (SOCS1) in Macrophages Improves Mycobacterium tuberculosis Control in an Interferon- γ (IFN- γ)-dependent Manner. *J Biol Chem*. 2011 Jul 29;286(30):26873-87. doi: 10.1074/jbc.M111.238287
34. Takahashi R, Nishimoto S, Muto G, Sekiya T, Tamiya T, Kimura A, Morita R, Asakawa M, Chinen T, Yoshimura A. SOCS1 is essential for regulatory T cell functions by preventing loss of Foxp3 expression as well as IFN- γ and IL-17A production. *J Exp Med*. 2011 Sep 26;208(10):2055-67. doi: 10.1084/jem.20110428
35. Hiwatashi K, Tamiya T, Hasegawa E, Fukaya T, Hashimoto M, Kakoi K, Kashiwagi I, Kimura A, Inoue N, Morita R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppression of SOCS3 in macrophages prevents cancer metastasis by modifying macrophage phase and MCP2/CCL8 induction. *Cancer Lett*. 2011 Sep 28;308(2):172-80. doi: 10.1016/j.canlet.2011.04.024,
36. Takahashi H, Kouno M, Nagao K, Wada N, Hata T, Nishimoto S, Iwakura Y, Yoshimura A, Yamada T, Kuwana M, Fujii H, Koyasu S, Amagai M. Desmoglein 3-specific CD4⁺ T cells induce pemphigus vulgaris and interface dermatitis in mice. *J Clin Invest*. 2011 Sep 1;121(9):3677-88. doi: 10.1172/JCI57379.
37. Sujino T, Kanai T, Ono Y, Mikami Y, Hayashi A, Doi T, Matsuoka K, Hisamatsu T, Takaishi H, Ogata H, Yoshimura A, Littman DR, Hibi T. Regulatory T Cells Suppress Development of Colitis, Blocking Differentiation of T-Helper 17 Into Alternative T-Helper 1 Cells. *Gastroenterology*. 2011 Sep;141(3):1014-23. doi:10.1053/j.gastro.2011.05.052
38. Joshi S, Pantalena LC, Liu XK, Gaffen SL, Liu H, Rohowsky-Kochan C, Ichiyama K, Yoshimura A, Steinman L, Christakos S, Youssef S. 1,25-dihydroxyvitamin D(3) ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A. *Mol Cell Biol*. 2011 Sep;31(17):3653-69. doi: 10.1128/MCB.05020-11
39. Wakabayashi Y, Tamiya T, Takada I, Fukaya T, Sugiyama Y, Inoue N, Kimura A, Morita R, Kashiwagi I, Takimoto T, Nomura M, Yoshimura A. Histone 3 lysine 9 (H3K9) methyltransferase recruitment to the interleukin-2 (IL-2) promoter is a mechanism of suppression of IL-2 transcription by the transforming growth factor- β -Smad pathway. *J Biol Chem*. 2011 Oct 14;286(41):35456-65. doi: 10.1074/jbc.M111.236794
40. Nakagawa R, Yoshida H, Asakawa M, Tamiya T, Inoue N, Morita R, Inoue H, Nakao A, Yoshimura A. Pyridone 6, a pan-JAK inhibitor, ameliorates allergic skin inflammation of NC/Nga mice via suppression of Th2 and enhancement of Th17. *J Immunol*. 2011 Nov 1;187(9):4611-20. doi:10.4049/jimmunol.1100649
41. Mori T, Miyamoto T, Yoshida H, Asakawa M, Kawasumi M, Kobayashi T, Morioka H, Chiba K, Toyama Y, Yoshimura A. IL-1 β and TNF α -initiated IL-6-STAT3 pathway is critical in mediating inflammatory cytokines and RANKL expression in inflammatory arthritis. *Int Immunol*. 2011 Nov;23(11):701-12. doi: 10.1093/intimm/dxr077
42. Yoshida H, Kimura A, Fukaya T, Sekiya T, Morita R, Shichita T, Inoue H, Yoshimura A. Low dose CP-690,550 (tofacitinib), a pan-JAK inhibitor, accelerates the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis by potentiating Th17 differentiation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Feb 10;418(2):234-40 doi:10.1016/j.bbrc.2011.12.156

43. Takaesu G, Kobayashi T, Yoshimura A. TGF β -Activated Kinase 1 (TAK1)-Binding Proteins (TAB) 2 and 3 Negatively Regulate Autophagy. *J Biochem*. 2012 Feb;151(2):157-66. doi: 10.1093/jb/mvr123
44. Sugiyama Y, Kakoi K, Kimura A, Takada I, Kashiwagi I, Wakabayashi Y, Morita R, Nomura M, Yoshimura A. Smad2 and Smad3 are redundantly essential for the suppression of iNOS synthesis in macrophages by regulating IRF3 and STAT1 pathways. *Int Immunol*. 2012 Apr;24(4):253-65. doi: 10.1093/intimm/dxr126
45. Yan X, Shichita T, Katsumata Y, Matsushashi T, Ito H, Ito K, Anzai A, Endo J, Tamura Y, Kimura K, Fujita J, Shinmura K, Shen W, Yoshimura A, Fukuda K, Sano M. Deleterious Effect of the IL-23/IL-17A Axis and $\gamma \delta$ T Cells on Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc*. 2012 Oct;1(5):e004408. doi: 10.1161/JAHA.112.004408.
46. Takaesu G, Inagaki M, Takubo K, Mishina Y, Hess PR, Dean GA, Yoshimura A, Matsumoto K, Suda T, Ninomiya-Tsuji J. TAK1 (MAP3K7) Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cells through TNF-Dependent and -Independent Mechanisms. *PLoS One*. 2012; 7(11):e51073. doi: 10.1371/journal.pone.0051073.
47. Inagaki-Ohara K, Mayuzumi H, Kato S, Minokoshi Y, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Matsuzaki G, Yoshimura A. Enhancement of leptin receptor signaling by SOCS3 deficiency induces development of gastric tumors in mice. *Oncogene*. 2012 Nov 26. doi: 10.1038/onc.2012.540
48. Shichita T, Hasegawa E, Kimura A, Morita R, Sakaguchi R, Takada I, Sekiya T, Ooboshi H, Kitazono T, Yanagawa T, Ishii T, Takahashi H, Mori S, Nishibori M, Kuroda K, Akira S, Miyake K, and Yoshimura A. Peroxiredoxin family proteins are key initiators of post-ischemic inflammation in the brain. *Nature Medicine* 2012 Jun;18(6):911-7. doi: 10.1038/nm.2749.
49. Wakabayashi H, Ito T, Fushimi S, Nakashima Y, Itakura J, Qiuying L, Win MM, Cuiming S, Chen C, Sato M, Mino M, Ogino T, Makino H, Yoshimura A, Matsukawa A. Spred-2 deficiency exacerbates acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *Clin Immunol*. 2012 Jul 14;144(3):272-282. doi: 10.1016/j.clim.2012.07.002.
50. Uto-Konomi A, Miyauchi K, Ozaki N, Motomura Y, Suzuki Y, Yoshimura A, Suzuki S, Cua D, Kubo M. Dysregulation of suppressor of cytokine signaling 3 in keratinocytes causes skin inflammation mediated by interleukin-20 receptor-related cytokines. *PLoS One*. 2012;7(7):e40343. doi: 10.1371/journal.pone.0040343.
51. Yoshida R, Suzuki M, Sakaguchi R, Hasegawa E, Kimura A, Shichita T, Sekiya T, Shiraishi H, Shimoda K, Yoshimura A. Forced expression of stabilized c-Fos in dendritic cells reduces cytokine production and immune responses in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 Jun 29;423(2):247-52. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.05.097.
52. Kawano Y, Nakae J, Watanabe N, Fujisaka S, Iskandar K, Sekioka R, Hayashi Y, Tobe K, Kasuga M, Noda T, Yoshimura A, Onodera M, Itoh H. Loss of pdk1-foxo1 signaling in myeloid cells predisposes to adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Diabetes*. 2012 Aug;61(8):1935-48. doi: 10.2337/db11-0770.
53. Yoshida H, Suzuki M, Sakaguchi R, Tani I, Kotani H, Shudo N, Yoshimura A. Preferential induction of Th17 cells in vitro and in vivo by Fucogalactan from *Ganoderma lucidum* (Reishi). *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 May 25;422(1):174-80. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.04.135.

54. Saeki K, Kanai T, Nakano M, Nakamura Y, Miyata N, Sujino T, Yamagishi Y, Ebinuma H, Takaishi H, Ono Y, Takeda K, Hozawa S, Yoshimura A, Hibi T. CCL2-Induced Migration and SOCS3-Mediated Activation of Macrophages Are Involved in Cerulein-Induced Pancreatitis in Mice. *Gastroenterology*. 2012 Apr;142(4):1010-1020.e9. doi: 10.1053/j.gastro.2011.12.054.
55. Sekine Y, Ikeda O, Mizushima A, Ueno Y, Muromoto R, Yoshimura A, Kanakura Y, Oritani K, Matsuda T. STAP-2 interacts with and modulates BCR-ABL-mediated tumorigenesis. *Oncogene*. 2012 Oct 4;31(40):4384-96. doi: 10.1038/onc.2011.604.
56. Sekine Y, Yamamoto C, Kakisaka M, Muromoto R, Kon S, Ashitomi D, Fujita N, Yoshimura A, Oritani K, Matsuda T. Signal-transducing adaptor protein-2 modulates Fas-mediated T cell apoptosis by interacting with caspase-8. *J Immunol*. 2012 Jun 15;188(12):6194-204. doi: 10.4049/jimmunol.1103467.
57. Takaesu G, Inagaki M, Takubo K, Mishina Y, Hess PR, Dean GA, Yoshimura A, Matsumoto K, Suda T, Ninomiya-Tsuji J. TAK1 (MAP3K7) signaling regulates hematopoietic stem cells through TNF-dependent and -independent mechanisms. *PLoS One*. 2012;7(11):e51073. doi: 10.1371/journal.pone.0051073.
58. Takaesu G, Kobayashi T, Yoshimura A. TGF β -Activated Kinase 1 (TAK1)-Binding Proteins (TAB) 2 and 3 Negatively Regulate Autophagy. *J Biochem*. 2012 Feb;151(2):157-66. doi: 10.1093/jb/mvr123.
59. Yoshida H, Kotani H, Kondo T, Tani I, Wei X, Tsuruta S, Kimura A, Asakawa M, Ito M, Nagai S, Yoshimura A. CDK inhibitors suppress Th17 and promote iTreg differentiation, and ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Jun 7;435(3):378-84. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.04.096.
60. Romain M, Taleb S, Dalloz M, Ponnuswamy P, Esposito B, Pérez N, Wang Y, Yoshimura A, Tedgui A, Mallat Z. Overexpression of SOCS3 in T Lymphocytes Leads to Impaired Interleukin-17 Production and Severe Aortic Aneurysm Formation in Mice--Brief Report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013 Mar;33(3):581-4. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.300516.
61. Hasegawa E, Sonoda KH, Shichita T, Morita R, Sekiya T, Kimura A, Oshima Y, Takeda A, Yoshimura T, Yoshida S, Ishibashi T, Yoshimura A. IL-23-Independent Induction of IL-17 from $\gamma\delta$ T Cells and Innate Lymphoid Cells Promotes Experimental Intraocular Neovascularization. *J Immunol*. 2013 Feb 15;190(4):1778-87. doi: 10.4049/jimmunol.1202495.
62. Ishida H, Imai T, Suzue K, Hirai M, Taniguchi T, Yoshimura A, Iwakura Y, Okada H, Suzuki T, Shimokawa C, Hisaeda H. IL-23 protection against Plasmodium berghei infection in mice is partially dependent on IL-17 from macrophages. *Eur J Immunol*. 2013 Jul 10. doi: 10.1002/eji.201343493
63. Carow B, Reuschl AK, Gavrier-Widén D, Jenkins BJ, Ernst M, Yoshimura A, Chambers BJ, Rottenberg ME. Critical and Independent Role for SOCS3 in Either Myeloid or T Cells in Resistance to Mycobacterium tuberculosis. *PLoS Pathog*. 2013 Jul;9(7):e1003442. doi: 10.1371/journal.ppat.1003442.
64. Hanada T, Weitzer S, Mair B, Bernreuther C, Wainger BJ, Ichida J, Hanada R, Orthofer M, Cronin SJ, Komnenovic V, Minis A, Sato F, Mimata H, Yoshimura A, Tamir I, Rainer J, Kofler R, Yaron A, Eggan KC, Woolf CJ, Glatzel M, Herbst R, Martinez J,

Penninger JM. CLP1 links tRNA metabolism to progressive motor-neuron loss. *Nature*. 2013 Mar 28;495(7442):474-80. doi: 10.1038/nature11923.

65. Zhang H, Neuhöfer P, Song L, Rabe B, Lesina M, Kurkowski MU, Treiber M, Wartmann T, Regnér S, Thorlacius H, Saur D, Weirich G, Yoshimura A, Halangk W, Mizgerd JP, Schmid RM, Rose-John S, Algül H. IL-6 trans-signaling promotes pancreatitis-associated lung injury and lethality. *J Clin Invest*. 2013 Mar 1;123(3):1019-31. doi: 10.1172/JCI64931.

66. Sekiya T, Kashiwagi I, Yoshida R, Fukaya T, Morita R, Kimura A, Ichinose H, Metzger D, Chambon P, Yoshimura A. Nr4a receptors are essential for thymic regulatory T cell development and immune homeostasis. *Nature Immunol*. 2013 Jan 20. 2013 Mar;14(3):230-7. doi: 10.1038/ni.2520.

67. Hayashi A, Sato T, Kamada N, Mikami Y, Matsuoka K, Hisamatsu T, Hibi T, Roers A, Yagita H, Ohteki T, Yoshimura A, Kanai T. A Single Strain of Clostridium butyricum Induces Intestinal IL-10-Producing Macrophages to Suppress Acute Experimental Colitis in Mice. *Cell Host Microbe*. 2013 Jun 12;13(6):711-22. doi: 10.1016/j.chom.2013.05.013.

68. Tamiya T, Ichiyama K, Kotani H, Fukaya T, Sekiya T, Shichita T, Honma K, Yui K, Matusyama T, Nakao T, Fukuyama S, Inoue H, Nomura M and Yoshimura A Smad2/3 and IRF4 Play a Cooperative Role in IL-9–Producing T Cell Induction *J Immunol* 2013 Sep 1;191(5):2360-71. doi: 10.4049/jimmunol.1301276.

69. Nishimoto S, Kotani H, Tsuruta S, Shimizu N, Ito M, Shichita T, Morita R, Takahashi H, Amagai M, and Yoshimura A. PsoriasisTh17 cells carrying TCR recognizing epidermal autoantigen induce psoriasis-like skin inflammation" *J Immunol* 2013 Sep 15;191(6):3065-72. doi: 10.4049/jimmunol.1300348.

70. Muto G, Kotani H, Kondo T, Morita R, Tsuruta S, Kobayashi T, Luche H, Fehling HJ, Walsh M, Choi Y, Yoshimura A. TRAF6 is essential for maintenance of regulatory T cells that suppress Th2 type autoimmunity. *PLoS One*. 2013 Sep 13;8(9):e74639. doi: 10.1371/journal.pone.0074639.

71. Venken K, Seeuws S, Zabeau L, Jacques P, Decruy T, Coudenys J, Verheugen E, Windels F, Catteuw D, Drennan M, Van Calenbergh S, Lambrecht BN, Yoshimura A, Tavernier J, Elewaut D.
A bidirectional crosstalk between iNKT cells and adipocytes mediated by leptin modulates susceptibility for T cell mediated hepatitis. *J Hepatol*. 2013 Aug 20. doi:pii: S0168-8278(13)00597-7. 10.1016/j.jhep.2013.08.008.

(2014)

72. Shirakabe K, Shibagaki Y, Yoshimura A, Koyasu S, Hattori S.
A proteomic approach for the elucidation of the specificity of ectodomain shedding. *J Proteomics*. 2014 Jan 20. pii: S1874-3919(14)00024-4. doi: 10.1016/j.jprot.2014.01.012

73. Mikami Y, Mizuno S, Nakamoto N, Hayashi A, Sujino T, Sato T, Kamada N, Matsuoka K, Hisamatsu T, Ebinuma H, Hibi T, Yoshimura A, Kanai T.
Macrophages and Dendritic Cells Emerge in the Liver during Intestinal Inflammation and Predispose the Liver to Inflammation. *PLoS One*. 2014 Jan 2;9(1):e84619. doi: 10.1371/journal.pone.0084619.

74. Kimura A, Abe H, Tsuruta S, Chiba S, Fujii-Kuriyama Y, Sekiya T, Morita R, Yoshimura A. Aryl hydrocarbon receptor protects against bacterial infection by promoting macrophage survival and reactive oxygen species production. *Int Immunol*. 2014 (in press):209-20. doi: 10.1093/intimm/dxt067.

75. Koike K, Ueda S, Yamagishi S, Yasukawa H, Kaida Y, Yokoro M, Fukami K, Yoshimura A, Okuda S. Protective role of JAK/STAT signaling against renal fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction. *Clin Immunol*. 2014 Jan;150(1):78-87. doi: 10.1016/j.clim.2013.11.003.

76. Abe H, Kimura A, Tsuruta S, Fukaya T, Sakaguchi R, Morita R, Sekiya T, Shichita T, Chayama K, Fujii-Kuriyama Y, Yoshimura A. Aryl hydrocarbon receptor plays protective roles in ConA-induced hepatic injury by both suppressing IFN- γ expression and inducing IL-22. *Int Immunol*. 2014 Mar;26(3):129-37. doi: 10.1093/intimm/dxt049.

永井グループ

1. Jinushi, M., Sato, M., Kanamoto, A., Itoh, A., Nagai, S., Koyasu, S, Dranoff, G. and Tahara, H. (2009) Milk fat globule EGF-8 blockade triggers tumor destruction through coordinated cell-autonomous and immune-mediated mechanisms. *J. Exp. Med*. 206:1317-1326 (May 11, 2009, DOI:10.1084/jem.20082614).

2. Matsui, T., Nakata, N., Nagai, S., Nakatani, A., Takahashi, M., Momose, T., Ohtomo, K. and Koyasu, S. (2009) Inflammatory cytokine and hypoxia contribute to ^{18}F -FDG uptake by cells involved in pannus formation in rheumatoid arthritis. *J. Nuc. Med*. 50:908-914 (May 14, 2009, DOI: 10.2967/jnumed.108.060103).

3. Hayashi, T., Nagai, S., Fujii, H., Baba, Y., Ikeda, E., Kawase, T. and Koyasu, S. (2009) Critical roles of NK and CD8 $^{+}$ T cells in distinct phases of CNS listeriosis. *J. Immunol*. 182:6360-6368 (May 15, 2009, DOI:10.4049/jimmunol.0803798).

4. Nagamatsu, K., Kuwae, K., Konaka, T., Nagai, S., Watanabe, M., Yoshida, S., Mimuro, H., Koyasu, S, and Abe, A. (2009) *Bordetella* evades the host immune system by inducing IL-10 through a type III effector, BopN. *J. Exp. Med*. 206:3073-3088 (December 21, 2009, DOI:10.1084/jem.20090494).

5. Moro, K., Yamada, T., Tanabe, M., Takeuchi, T., Ikawa, T., Kawamoto, H., Furusawa, J.-I., Ohtani, M., Fujii, H. and Koyasu, S. (2010) Innate production of Th2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit $^{+}$ Sca-1 $^{+}$ lymphoid cells. *Nature* 463:540-544 DOI:10.1038/nature08636).

6. Chiba, S., Nagai, T., Hayashi, T., Baba, Y., Nagai, S. and Koyasu, S. Listerial invasion protein internalin B promotes the entry into ileal Peyer's patches *in vivo*. *Microbiol. Immunol*. 2011; 55:123-129 (January 25, 2011, doi: 10.1111/j.1348-0421.2010.00292.x.).

7. Sugiura D, Denda-Nagai K, Takashima M, Murakami R, Nagai S, Takeda K, *Irimura T. Local Effects of Regulatory T Cells in MUC1 Transgenic Mice Potentiate Growth of MUC1 Expressing Tumor Cells In Vivo. *PLoS One*. 2012;7(9):e44770. (Sep 17 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0044770).

8. Kurebayashi Y, Nagai S, Ikejiri A, Ohtani M, Ichiyama K, Baba Y, Yamada T, Egami S, Hoshii T, Hirao A, Matsuda S, Koyasu S. PI3K-Akt-mTORC1-S6K1/2 axis controls Th17 differentiation by regulating Gfi1 expression and nuclear translocation of ROR γ . *Cell Rep*. 2012 Apr 19;1(4):360-73. doi: 10.1016/j.celrep.2012.02.007.

9. Yoshizawa A, Nagai S, Baba Y, Yamada T, Matsui M, Tanaka H, Miyoshi S, Amagai M, Yoshikawa T, Fukuda K, Ogawa S, Koyasu S. Autoimmunity against M₂ muscarinic acetylcholine receptor induces myocarditis and leads to a dilated cardiomyopathy-like phenotype. *Eur J Immunol*. 2012 May;42(5):1152-63. doi: 10.1002/eji.201142104.
10. Anzai A, Anzai T, Nagai S, Maekawa Y, Naito K, Kaneko H, Sugano Y, Takahashi T, Abe H, Mochizuki S, Sano M, Yoshikawa T, Okada Y, Koyasu S, Ogawa S, Fukuda K. Regulatory role of dendritic cells in postinfarction healing and left ventricular remodeling. *Circulation*. 2012 Mar 13;125(10):1234-45. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.052126.
11. Ikejiri A, Nagai S, Goda N, Kurebayashi Y, Osada-Oka M, Takubo K, Suda T, Koyasu S. Dynamic regulation of Th17 differentiation by oxygen concentrations. *Int Immunol*. 2012 Mar;24(3):137-46. doi: 10.1093/intimm/dxr111.
12. Funao H, Ishii K, Nagai S, Sasaki A, Hoshikawa T, Aizawa M, Okada Y, Chiba K, Koyasu S, Toyama Y, Matsumoto M. Establishment of a real-time, quantitative, and reproducible mouse model of Staphylococcus osteomyelitis using bioluminescence imaging. *Infect Immun*. 2012 Feb;80(2):733-41. doi: 10.1128/IAI.06166-11.
13. Yoshida, H., Kotani, H., Kondo, T., Tani, I., Wei, X., Tsuruta, S., Kimura, A., Asakawa, M., Ito, M., Nagai S, Yoshimura, A. (2013) CDK inhibitors suppress Th17 and promote iTreg differentiation, and ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 435(3):378-84 (May 9, 2013. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.04.096).
14. Murakami, R., Denda-Nagai, K., Hashimoto, SI, Nagai, S, Hattori, M., Irimura, T. A unique dermal dendritic cell subset that skews the immune response toward Th2. *PLoS One*, 2013 Sep 9;8(9):e73270. doi: 10.1371/journal.pone.0073270.

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

英文総説 (国際 14 件)

吉村グループ

1. Yoshimura A, Muto G. TGF-beta Function in Immune Suppression. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2011;350:127-47. doi: 10.1007/82_2010_87
2. Yoshimura A, Wakabayashi Y, Mori T. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF-beta. *J Biochem*. 2010 Jun;147(6):781-92. doi: 10.1093/jb/mvq043
3. Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppressors of Cytokine Signaling (SOCS) Proteins and JAK/STAT Pathways: Regulation of T-Cell Inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 May;31(5):980-5. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.207464.
4. Shichita T, Ago T, Kamouchi M, Kitazono T, Yoshimura A, Ooboshi H. Novel therapeutic strategies targeting innate immune responses and early inflammation after stroke. *J Neurochem*. 2012 Nov;123 Suppl 2:29-38. doi: 10.1111/j.1471-4159.2012.07941.x.
5. Shichita T, Sakaguchi R, Suzuki M, Yoshimura A. Post-Ischemic Inflammation in the Brain. *Front Immunol*. 2012;3:132. doi: 10.3389/fimmu.2012.00132.

6. Yoshimura A, Suzuki M, Sakaguchi R, Hanada T, Yasukawa H. SOCS, Inflammation, and Autoimmunity. *Front Immunol*. 2012;3:20. doi: 10.3389/fimmu.2012.00020.
7. Yoshimura A, Yasukawa H. JAK's SOCS: a mechanism of inhibition. *Immunity*. 2012 Feb 24;36(2):157-9. doi: 10.1016/j.immuni.2012.01.010.
8. Yoshimura A, Muto G. TGF-beta Function in Immune Suppression. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2011; 350; 127-47.
9. Yoshimura A, Wakabayashi Y, Mori T. Cellular and molecular basis for the regulation of inflammation by TGF-beta. *J Biochem*. 2010 ;147; 781-92. doi: 10.1093/jb/mvq043
10. Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppressors of Cytokine Signaling (SOCS) Proteins and JAK/STAT Pathways: Regulation of T-Cell Inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31; 980-5.
11. Yoshimura A. CIS: the late-blooming eldest son. *Nat Immunol*. 2013; 14; 692-4. doi: 10.1038/ni.2645.
12. Inagaki-Ohara K, Kondo T, Ito M, Yoshimura A. SOCS, inflammation, and cancer. *JAKSTAT*. 2013 Jul 1;2(3):e24053

永井グループ

1. Matsushima K, Nagai S. Unraveling the mystery of the hygiene hypothesis through *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Invest*. 2012 Mar 1;122(3):801-804 (Feb 6:1-3. 2012. DOI: 10.1172/JCI61466)
2. Kurebayashi Y, Nagai S, Ikejiri A, Koyasu S. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of the development and function of Th17 cells. *Genes Cells*. 2013 Feb 5. doi: 10.1111/gtc.12039.
3. Nagai S, Kurebayashi Y, Koyasu S. Role of PI3K/Akt and mTOR complexes in Th17 differentiation. *Ann N Y Acad Sci*. 2013 Mar;1280(1):30-34 (DOI: 10.1111/nyas. 12059).

日本語総説 (国内 27 件)

吉村グループ

1. 吉村昭彦、若林友、森智章. 「TGF β による免疫抑制作用」細胞工学 28(11) 1127-1134, 2009.
2. 吉村昭彦, 高田伊知郎, 駒井恭子, 中川竜介. 「新しいT細胞サブセットTh17-Th17の分化制御と免疫疾患」医学のあゆみ, 230(9) : 667-673, 2009.
3. 吉村昭彦, 若林友. 「サイトカインによるTh17の分化制御」炎症と免疫, 17(1) : 3-9, 2009.
4. 吉村昭彦. 「炎症性サイトカインシグナルと発がん」日本再生歯科医学会誌, 6(2) : 131-132, 2009.
5. 古賀敬子, 吉村昭彦. 「cAMPによる炎症性サイトカイン産生抑制の新規機構」医学のあゆみ, 232(8) : 878-880, 2010.
6. 吉村昭彦, 古賀敬子, 白石裕士. 「cAMPによる炎症性サイトカイン産生抑制機構」医学のあゆみ, 234(5) : 364-370, 2010.

7. 七田崇, 吉村昭彦.「虚血性疾患とサイトカイン -おもに脳虚血の視点から」医学のあゆみ, 234(5): 551-556, 2010.
8. 武藤剛, 若林友, 吉村昭彦.「TGF- β によるヘルパーT細胞の分化制御」医学のあゆみ, 234(10): 916-922, 2010.
9. 市山健司, 吉村昭彦.「TGF- β によるヘルパーT細胞の分化制御」実験医学, 28(6): 869-876, 2010.
10. 吉村昭彦, 長谷川英一, 武藤剛.「炎症とサイトカイン」実験医学, 28(12): 1828-1836, 2010.
11. 七田崇, 吉村昭彦.「虚血性疾患とサイトカイン」実験医学, 28(12): 2011-2014, 2010.
12. 七田 崇, 大星 博明, 北園 孝成, 石井 哲郎, 黒田 和道, 三宅 健介, 審良 静男, 吉村 昭彦.「治療ターゲットとしての脳虚血後の炎症 T細胞と脳虚血後炎症(会議録)」脳循環代謝 (0915-9401)23巻2号 Page65(2012.09)
13. 七田 崇, 吉村 昭彦.「ペルオキシレドキシンを介した虚血後の炎症と脳梗塞」血栓と循環 (0919-7036)20巻3号 Page182-187(2012.12)
14. 吉村 昭彦, 武藤 剛.「インターロイキン IL-17」臨床免疫・アレルギー科(1881-1930)57巻 Suppl.21 Page119-124(2012.05)
15. 七田 崇, 吉村 昭彦.「マクロファージによる脳梗塞後炎症の誘導」細胞工学(0287-3796)31巻11号 Page1225-1230(2012.10)
16. 此枝 史恵, 七田 崇, 吉田 秀行, 杉山 由紀, 武藤 剛, 長谷川 英一, 森田 林平, 鈴木 則宏, 吉村 昭彦.「脳梗塞モデルにおけるインターロイキン-12/23とそのシグナル経路の阻害による治療効果」臨床神経学(0009-918X)51巻12号 Page1231(2011.12)
17. 関谷 高史, 吉村 昭彦.「Nr4a2によるFoxp3の誘導機構(解説/特集)」臨床免疫・アレルギー科(1881-1930)57巻4号 Page360-366(2012.04)
18. 鈴木 麻友, 坂口 了太, 吉村 昭彦.「SOCS1およびSOCS3によるT細胞分化と炎症の制御」実験医学(0288-5514)30巻5号 Page746-753(2012.03)
19. 七田 崇, 吉村 昭彦.「遺伝子改変動物から学ぶ血栓症(第33回)(最終回) ペルオキシレドキシンを介した虚血後の炎症と脳梗塞」血栓と循環(0919-7036)20巻3号 Page182-187(2012.12)
20. 近藤 泰介, 鶴田 早苗, 吉村 昭彦.「TGF- β によるヘルパーT細胞分化誘導の分子機構」臨床免疫・アレルギー科 (1881-1930)59巻2号 Page245-252(2013.02)
21. 伊藤 美菜子, 近藤 泰介, 吉村 昭彦.「サイトカインの産生・作用とシグナル伝達分子 TGF- β によるサイトカイン産生制御機構(解説/特集)」臨床免疫・アレルギー科(1881-1930)59巻3号 Page274-281(2013.03)
22. 吉村 昭彦, 近藤 泰介, 伊藤 美菜子.「免疫学の基礎 サイトカインとそのシグナル」最新医学(0370-8241)68巻3月増刊 Page489-501(2013.03)
23. 七田 崇, 大星 博明, 北園 孝成, 吉村 昭彦.「脳虚血後炎症における自然免疫の役割」脳卒中(0912-0726)35巻2号 Page114-120(2013.03)
24. 吉村昭彦, 伊藤 美菜子, 近藤 泰介, 七田 崇.「ペルオキシレドキシンによる脳虚血後炎症を惹起するメカニズム」生化学(0037-1017)85巻3号 Page179-186(2013.03)

25. 吉村 昭彦, 近藤 泰介, 高橋 令子 「膠原病の発症病因 SOCS1による抑制性T細胞の可塑性制御」
臨床リウマチ(0914-8760)25巻4号 Page292-297(2013.12)

26. 関谷 高史, 吉村 昭彦 「制御性T細胞で機能する転写因子を標的とした免疫応答制御(解説/特集)」
細胞工学(0287-3796)32巻12号 Page1238-1244(2013.11)

27. 吉村 昭彦 「知っておきたい 血管医学用語 IL-17(解説)」
Vascular Medicine(1880-2478)9巻2号 Page183-186(2013.10)

28. 七田 崇, 吉村 昭彦, 大星 博明 「注目される病態関連分子(第19回) 脳虚血とToll like-receptor(TLR)(解説)」
分子脳血管病(1346-8995)12巻4号 Page396-400(2013.10)

29. 伊藤 美菜子, 近藤 泰介, 七田 崇, 吉村 昭彦 「脳虚血後の自然免疫応答と初期炎症を標的とした新規脳梗塞治療戦略(総説)」
日本臨床(0047-1852)71巻7号 Page1291-1301(2013.07)

30. 吉村 昭彦 「JAKとその制御(解説/特集)【関節リウマチ治療の新しい展開～JAK阻害薬の臨床導入による進歩～】」
医薬ジャーナル(0287-4741)49巻8号 Page1980-1988(2013.08)

31. 関谷 高史, 吉村 昭彦 「Nr4a核内受容体とTGF-βによるFoxp3の誘導機構(解説/特集)【制御性T細胞-その基礎と臨床展開】」
医のあゆみ(0039-2359)246巻10号 Page823-830(2013.09)

32. 七田 崇, 吉村 昭彦 「【<Basic Science>Th17と炎症:最新の知見】脳虚血後炎症における自然免疫とT細胞の役割(解説/特集)」
炎症と免疫(0918-8371)21巻2号 Page117-122(2013.02)

33. 七田 崇, 吉村 昭彦 「脳虚血後炎症におけるDAMPsの役割(解説)」
感染・炎症・免疫(0387-1010)43巻1号 Page66-70(2013.04)

34. 吉村 昭彦 「注目される病態関連分子(第20回) IL-17(解説)」
分子脳血管病(1346-8995)13巻1号 Page71-76(2014.01)

永井グループ

1. 池尻 藍, 永井 重徳, 小安 重夫. 「HIF-αと低酸素がもたらすT細胞分化への影響」実験医学(0288-5514) 30巻8号 Page1264-1269 (2012. 05)

2. 永井 重徳, 紅林 泰, 小安 重夫. 症と免疫, 21(2):98-107, 2013.

3. 池尻 藍, 永井 重徳, 小安 重夫. 「低酸素環境下でのTh17細胞の分化」臨床免疫・アレルギー科, 58(6):728-735, 2012.

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

①招待講演 (国内 26 件、国際 19 件)

吉村グループ

〈国内〉

1. 吉村昭彦.「サイトカインによるヘルパーT 細胞の分化制御と病態」第 5 回血液免疫ネットワーク in 金沢、金沢、2009/9/26.
2. 吉村昭彦.「サイトカインによるT細胞の分化制御と関連疾患」第6回東京呼吸器リサーチフォーラム、東京、2009/11/7.
3. 吉村昭彦.「サイトカインによる Th17 分化の制御と病態」第 10 回運動器科学研究会、東京、2009/9/18.
4. 吉村昭彦.「サイトカインによる T 細胞の分化制御と病態」第 29 回岡山免疫懇話会、岡山、2010/3/10.
5. 吉村昭彦.「脳血管障害と γ δ T 細胞」第 22 回日本神経免疫学会学術集会 特別講演、東京、2010/3/19.
6. 吉村昭彦.「Roles of the TGF- β -Smad signaling in helper T cell function and differentiation」第83回日本細菌学会シンポジウム、横浜、2010/3/27-29.
7. 吉村昭彦.「サイトカインによるT細胞分化と炎症の制御」第一回福岡臨床皮膚科セミナー、福岡、2010/7/13.
8. 吉村昭彦.「マウス免疫応答におけるヘルパーT 細胞の役割と分化制御」第22回比較免疫学会学術集会、福岡、2010/8/2-4.
9. 吉村昭彦.「サイトカインによるヘルパーT 細胞の分化制御機構」第 39 回日本臨床免疫学会総会、東京、2011/9/15.
10. 吉村昭彦.「Th17 を中心とした新しいヘルパーT 細胞サブセットの分化と機能をめぐる最近の話題」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27-29.
11. 吉村昭彦、高橋令子.「Role of SOCS1 in Treg plasticity and functions」第 6 回千葉大学医学系グローバル COE プログラムシンポジウム「Immune System Regulation toward Disease Control」、千葉、2011/11/30
12. 吉村昭彦、七田崇.「脳虚血後の炎症における DAMPs とサイトカインの役割」第 21 回内毒素・LPS 研究会、東京、2012/6/23.
13. 吉村昭彦.「IL-23-IL-17 軸と脳内炎症」第 7 回リウマチヤングアカデミー、札幌、2010/7/13-15.
14. 吉村昭彦.「サイトカインによる免疫制御と脳梗塞疾患モデル」免疫サマースクール 2012 in NASU、那須、2012/7/23-26.
15. 吉村昭彦.「サイトカインシグナルの阻害と免疫疾患制御」技術情報協会 炎症性腸疾患セミナー、東京、2012/7/31.
16. 吉村昭彦.「サイトカインによる炎症制御と虚血性疾患」第 7 回 Basic Urology Research Seminar、大分、2012/8/25.

17. 吉村昭彦.「脳虚血後炎症におけるサイトカインの誘導機構」BD 学術セミナー2012、東京、2012/8/31.
18. 吉村昭彦.「サイトカインによる免疫制御と脳内炎症」第 40 回日本臨床免疫学会総会、東京、2012/9/27-29.
19. 吉村昭彦.「新規サイトカインと炎症、自己免疫疾患」血小板・巨核球学術講演会、東京、2012/10/6.
20. 吉村昭彦.「SOCS1による抑制性T細胞の可塑性制御」日本臨床リウマチ学会、神戸、2012/11/23.
21. 吉村昭彦、柏木一光.「Molecular Bases for the Regulation of DC and T cell responses by TGF- β 」第 41 回日本免疫学会学術集会国際シンポジウム:Regulation of immune responses、神戸、2012/12/5-7.
22. 吉村昭彦.「Mechanisms of post-ischemic inflammation in the brain.」日本分子生物学会シンポジウム S10 炎症の分子生物学、福岡、2012/12/14.
23. 吉村昭彦.「サイトカインの作用と脳内炎症における意義」大分県立病院 トランスレーショナルリサーチセミナー、大分、2012/2/23.
24. 吉村昭彦.「脳梗塞、脳内炎症におけるサイトカインの役割」第6回宮崎ニューロサイエンスアカデミー、宮崎、2013/4/18.
25. 吉村昭彦.「脳虚血後炎症による梗塞拡大の分子機構」日本 Shock 学会、東京、2013/5/18.
26. 吉村昭彦.「抑制性 T 細胞の産生機構:TGF- β と Nr4a」第 9 回広島肝臓研究センターシンポジウム、広島、2013/6/29.
27. 吉村昭彦 「Treg の創り方:TGF β と NR4a」免疫サマースクール 2013 8/1 福岡市
28. 吉村昭彦「サイトカインによるヘルパーT細胞の分化制御と皮膚疾患」第65回 西日本皮膚科学会 2013 11/9 鹿児島市
29. 関谷高史、吉村昭彦 「NR4a 核内受容体による制御性 T 細胞分化誘導の分子機序」 第8回自己免疫疾患研究会 2013 7/20 東京都
30. 吉村昭彦、関谷高史 [The nuclear orphan receptor Nr4a family is essential for nTreg development and immune homeostasis] 第86回日本生化学会大会 2013 9/12 横浜
31. 吉村昭彦 [サイトカインによるヘルパーT細胞の制御と疾患モデル]「第 8 回サイトカイン研究会」2013 11/16 神戸
32. 吉村昭彦 インターロイキン17による免疫制御と血管傷害]「西中国眼科フォーラム」 2013 11/21 宇部市
33. 吉村昭彦 [JAK-STAT 経路とその制御因子の発見] 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 12/5 神戸
34. 吉村昭彦 [抑制性 T 細胞の産生機構:TGF β -Smad と NR4a]千葉基礎・臨床免疫セミナー 2013 12/19 千葉

35. 吉村昭彦 [免疫系シグナルを標的とした創薬] 日本学術会議 薬学委員会 生物系薬学分科会シンポジウム 2014 1/10 東京
36. 吉村昭彦 「ヘルパーT細胞分化制御と自己免疫疾患」 自己免疫疾患セミナー(第43回ヒューマンサイエス総合研究セミナー) 2014 2/28 ヒューマン 東京 品川
37. 吉村昭彦 [抑制性 T 細胞(Treg)の産生機構:TGF- β と NR4a]
- リウマ特別講演会 2014 3/20 東京 水道橋

〈国際〉

1. Akihiko Yoshimura. Molecular basis for immune suppression by TGF β /Smad2/3. 5th Leukocyte Signal Transduction Workshop, sponsored by *Aegean Conferences Aldeamar* Knossos Royal Village in Hersonissos, Crete, Greece, 2009/6/13-18.
2. Akihiko Yoshimura. T cell differentiation and cytokine network in immunological diseases. 19th International Rheumatoid symposium, Kobe, 2010/4/23.
3. Akihiko Yoshimura. SOCS1 is necessary for innate immune tolerance to intestinal flora by regulating prostaglandin- mediated immunosuppression. World Immune Regulation Meeting-IV, Davos, Switzerland, 2010/4/1.
4. Akihiko Yoshimura, Takashi Shchita, Fumie Konoeda. Role of IL-23 and IL-17-producing $\square\square$ T cells in the delayed phase of brain ischemia. China Treg/Th17, Shanghai, China, 2010/7/17-20.
5. Akihiko Yoshimura, Kenji Ichiyama. Role of TGF-beta-Smad2/3 signaling in helper T cell function and differentiation. Keystone symposium “TGF-beta” Snowbird, USA, 2011/1/8-12.
6. Akihiko Yoshimura, Tamiya Taiga, and Takatoshi Chinen. Regulation of innate immune tolerance by PGE2 and SOCS1 in the intestine. Joint international meeting of JSICR-MMCB, 2011/5/25-27.
7. Akihiko Yoshimura, Kenji Ichiyama. Role of TGF- $\square$ eta-Smad2/3 signaling in helper T cell function and differentiation. 20th International Rheumatoid symposium, Kobe, 2011/7/19.
8. Akihiko Yoshimura, Tamiya Taiga, and Takatoshi Chinen. Regulation of innate immune tolerance by PGE2 and SOCS1 in the intestine. Joint international meeting of JSICR-MMCB. Osaka, 2011/5/25-27.
9. Akihiko Yoshimura, Kenji Ichiyama. Role of TGF- $\square$ eta-Smad2/3 signaling in helper T cell function and differentiation. 20th International Rheumatoid symposium, Kobe, 2011/7/19.
10. Akihiko Yoshimura. Suppression of intestinal inflammation by PGE2, IL-10 and SOCS1. International Symposium on Immune Tolerance and Mucosal Immunology. Chengdu, China, 2012/10/9-11.
11. Akihiko Yoshimura. The IL-23-IL-17 axis in the brain inflammation after stroke. The 34th Naito Conference. Sapporo, 2012/10/16-19.

12. Akihiko Yoshimura, Takatoshi Chinen and Takashi Sekiya. Suppression of intestinal inflammation by signals of IL-10, TGF- β and novel factors. Keystone symposium *Emerging Topics in Immune System Plasticity: Cellular Networks, Metabolic Control, and Regeneration*. Santa Fe, New Mexico, USA, 2013/1/15-20.
13. Akihiko Yoshimura and Takashi Sekiya. The nuclear orphan receptor Nr4a family is essential for nTreg development and immune homeostasis". JST-CREST Symposium "Frontiers in Immunology and Inflammation". 2013/2/12-13.
14. Akihiko Yoshimura. Hematopoietic and immunological defects of Spred. The 9th NF-workshop "Molecular and cellular mechanisms in neurofibromatosis type 1 and related syndromes". Leuven, 2013/4/4-5.
15. Akihiko Yoshimura and Takashi Sekiya. Novel Nuclear Factor that makes Tregs. JSICR - MNCB2013. Tokyo, 2013/5/20-21.
16. Akihiko Yoshimura and Takashi Sekiya. The nuclear orphan receptor Nr4a family is essential for nTreg development and immune homeostasis. 2013 Symposium on Epigenetics and Autoimmunity. Chengdu, China, 2013/6/19.
17. Akihiko Yoshimura and Takashi Sekiya. The nuclear orphan receptor Nr4a family is essential for nTreg development and immune homeostasis. 1st RCCH international symposium. Seoul, 2013/6/10.
18. Akihiko Yoshimura. Generation of regulatory T cells (Tregs) by TGF- β and NR4a. Frontiers in Immunology Conference. Tokyo, 2013/7/29.
19. YOSHIMURA Akihiko and SEKIYA Takashi Generation of regulatory T cells (Tregs) by TGF- β and NR4a nuclear factor. The FIMSA International Symposium on Autoimmune Diseases Beijing China, 2013/17-20
20. Akihiko Yoshimura Generation of regulatory T cells (Tregs) by TGF- β and NR4a Fourth Synthetic Immunology Workshop "Engineering in Immunity" 2013/11/15 Kyoto
21. Akihiko Yoshimura Regulation of Treg development by TGF- β and NR4a the 3rd Bizan Immunology Symposium 2014/2/13/14 Tokushima

永井グループ

19. Shigenori Nagai, Shigeo Koyasu. Role of PI3K-Akt-mTORC1 axis on Th17 differentiation during *Helicobacter pylori* infection. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, Sapporo, 2011/9/6-10.

②口頭講演 (国内 44 件、国際 10 件)

〈国内〉

1. Takashi Shichita, DJ. Cua, Y. Iwakura, M Iida, A. Yoshimura. 「Pivotal role of cerebral interleukin-17-producing gammadeltaT cells in the delayed phase of ischemic brain injury.」The 9th World Congress on Inflammation、東京、2009/7/9.
2. Masayuki Hashimoto and A. Yoshimura. 「Silencing of *SOCS1* in macrophages suppresses tumor development by enhancing antitumor inflammation.」The 9th World Congress on Inflammation. 東京、2009/7/9.
3. 吉村昭彦, 古賀敬子, 吉田亮子. 「cAMPとIKK β はc-Fosのリン酸化を介して炎症性サイトカインの産生を抑制する」第82回日本生化学会大会、神戸、2009/10/24.
4. 市山健司、此枝史恵、森智章、吉村昭彦. 「新規IL-17発現制御因子の探索」第82回日本生化学会大会、神戸、2009/10/24.
5. 吉村昭彦. 「SOCSおよびSTATによる炎症性発がんの制御」第32回日本分子生物学会年会、横浜、2009/12/9.
6. 市山健司、吉村昭彦. 「TGF β によるヘルパーT細胞の分化制御」第32回日本分子生物学会年会、横浜、2009/12/9.
7. 市山健司、杉山由紀、駒井恭子、森智章、吉村昭彦. 「Gfi1 は ROR γ の活性を阻害することで Th17 分化を負に制御する.」第 39 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2009/12/2.
8. 七田崇、大星博明、小林隆志、杉山由紀、杉森宏、岩倉洋一郎、飯田三雄、吉村昭彦. 「脳虚血重急性期におけるIL-17産生性gammadeltaTリンパ球の役割」第21回脳循環代謝学会、大阪、2009/11/19.
9. Takashi Shichita, Takashi Kobayashi, Yuki Sugiyama, Ryusuke Nakagawa, and Akihiko Yoshimura. 「Pivotal role of cerebral interleukin-17-producing gammadeltaT cells in the delayed phase of ischemic brain injury.」第39回日本免疫学会、大阪、2009/12/4.
10. Yutaka Kurebayashi, Shigenori Nagai, Yukiko Baba, Shigeo Koyasu. 「Th17 differentiation is positively controlled by PI3K/Akt signaling」 The 9th World Congress on Inflammation. 東京、2009/7/8.
11. 紅林泰、永井重徳、馬場夕紀子、小安重夫. 「ヘルパーT細胞分化におけるPI3K/Akt/mTORC1経路の役割」第82回日本生化学会大会、神戸、2009/10/23.
12. 紅林泰、永井重徳、馬場夕紀子、小安重夫. 「Th17細胞分化におけるPI3K-Akt-mTOR経路の重要性」第39回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2009/12/2.
13. 茂呂和世、山田健人、伊川友活、河本宏、藤猪英樹、小安重夫. 「マウス腸間膜に存在する natural helper cell の自然免疫機構における役割」第39回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2009/12/2.
14. 松田達志、平田泰子、小安重夫. 「JNK/p38 MAPK 阻害剤 LL-Z1640-2 は免疫抑制剤として機能する」第 39 回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2009/12/3.
15. 杉山由紀、吉村昭彦. 「Smad2 and Smad3 redundantly inhibit iNOS expression in activated macrophages.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.

16. 関谷高史、吉村昭彦. 「Regulation of CD4 T cell differentiation and autoimmune diseases by the nuclear orphan receptor Nr4a2.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
17. 木村彰宏、吉村昭彦. 「Aryl hydrocarbon receptor regulates innate immune responses to *Listeria monocytogenes*.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
18. 吉田秀之、吉村昭彦. 「Differential effects of small molecule JAK inhibitors on T helper cell subset differentiation and autoimmune/allergy disease models.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
19. 田宮大雅、吉村昭彦. 「The Smad-dependent mechanism of suppression of IL-2 transcription by TGF- β .」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
20. 柏木一光、吉村昭彦. 「Smad2-deficient dendritic cells are less-immunogenic in the periphery but pro-inflammatory in the brain.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
21. 武藤 剛、吉村昭彦. 「Regulatory T cells specific TRAF6 deletion resulted in Th2 type inflammation.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
22. 高里文香、吉村昭彦. 「Application of antigen-specific iTreg and nTreg adoptive transfer to induce tolerance in a H2-mismatched cardiac transplantation model.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
23. 七田崇、吉村昭彦. 「TLR2/4 signaling pathway in infiltrating immune cell has a key role in the initiation of post-ischemic inflammation in the brain.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
24. 高橋令子、吉村昭彦. 「SOCS1 is essential for regulatory T cell functions by preventing loss of Foxp3 expression as well as IFN γ and IL-17A production.」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27.
25. 池尻藍、永井重徳、小安重夫. 「再酸素化により Th17 細胞分化は促進する」第 21 回 Kyoto T Cell Conference, 京都, 2011/6/10-11.
26. 池尻藍、永井重徳、小安重夫. 「生体の酸素濃度を反映した低酸素濃度下での T 細胞分化について」第 152 回日本獣医学会学術集会, 大阪, 2011/9/19-21.
27. 永井重徳、紅林泰、馬場夕紀子、松田達志、小安重夫. 「PI3K-Akt-mTORC1 axis controls Th17 differentiation by regulation of Gfi-1 and RORgt」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27-29.
28. 池尻藍、永井重徳、小安重夫. 「HIF-1 α regulates the differentiation of Th17 primed under hypoxia」第 40 回日本免疫学会総会・学術集会、千葉、2011/11/27-29.
29. Tomohiro Fukaya. 「Roles of Sprouty family proteins in the differentiation of Th17 cells.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.

30. AKASAKA Daichi. 「STAP-2 regulates T cell antigen receptor signaling.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
31. MORITA Rimpei. 「Epigenetic modification induces CD8ab-expressing double-positive T cells from human blood CD4+ T cells.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
32. SEKIYA Takashi. 「Regulation of CD4 T cell differentiation and inflammatory diseases by the nuclear orphan receptor Nr4a2.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
33. ABE Hiromi. 「Role of Aryl hydrocarbon receptor in Con A-induced hepatitis.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
34. TAMIYA Taiga. 「Smad2 and Smad3 are essential for TGF- β -mediated Th9 development.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
35. KIMURA Akihiro. 「Aryl hydrocarbon receptor is important for macrophage survival and protection against *Listeria monocytogenes* infection.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
36. SHICHITA Takashi. 「Peroxisome oxidoreductase family protein is a key initiator of the cerebral post-ischemic inflammation.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
37. TAKAHASHI Reiko. 「Function of SOCS1 in regulatory T cells under inflammatory conditions.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
38. KONDO Taisuke. 「Evidence that NKT cells regulate adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
39. KASHIWAGI Ikkoh. 「Generation of tolerogenic dendritic cells by Smad2-deficiency.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
40. MUHAMMAD Baghdadi. 「TIM-4 blockade augments therapeutic efficacy of chemotherapy by immune-mediated mechanisms.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
41. NAGATA Masahiro. 「Recognition of amphiphilic acylglucoside derived from *Helicobacter pylori* by C-type lectin receptor Mincle.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.
42. 松田達志, 永井重徳, 星居孝之, 小安重夫, 平尾敦, 大谷真志. 「獲得免疫系における mTORC1 シグナルの役割」第 35 回日本分子生物学会、福岡、2012/12/11-14.
43. 永井重徳, 紅林泰, 大谷真志, 松田達志, 小安重夫. 「PI3K-Akt-mTORC1-S6K1/2 経路は Gfi1 の発現および ROR γ の核移行を調節することにより Th17 分化を制御する」第 22 回 Kyoto T cell Conference、京都、2012/7/6-7.
44. 永井重徳, 小安重夫. 「樹状細胞移入による新規コラーゲン誘導関節炎モデルの確立」第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会、東京、2012/4/26-28.

〈国際〉

1. Shigenori Nagai, Ryosuke Katori, Munenori Oyama, Shigeo Koyasu. Establishment of a novel collagen-induced arthritis model by manipulating dendritic cells. The 11th International Symposium on Dendritic Cells, Lugano, Switzerland, 2010/9/29.
2. Y. Kurebayashi, S. Nagai, Y. Baba, S. Koyasu. Regulation of Th17 cell differentiation by PI3K-Akt-mTORC1 axis. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
3. K. Moro, T. Yamada, M. Tanabe, T. Takeuchi, T. Ikawa, H. Kawamoto, J. Furusawa, M. Ohtani, H. Fujii, S. Koyasu. Innate production of TH2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit+Sca-1+ lymphoid cells. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
4. Ai Ikejiri, Shigenori Nagai, Shigeo Koyasu. Reoxygenation accelerates Th17 cell differentiation primed under hypoxia. 2011 Joint Annual Meeting, Italy, 2011/9/28-10/1.
5. Shigenori Nagai, Yutaka Kurebayashi, Ai Ikejiri, Masashi Ohtani, Kenji Ichiyama, Yukiko Baba, Taketo Yamada, Shohei Egami, Takayuki Hoshii, Atsushi Hirao, Satoshi Matsuda, Shigeo Koyasu. PI3K-Akt-mTORC1-S6K1/2 Axis Controls Th17 Differentiation. *Inositol Phospholipid Signaling in Physiology and Disease*. New York, 2012/6/26-27.
6. Akihiko Yoshimura. Effect of Biological and Chemical JAK Inhibitors on Th17 and Inflammatory Disease Models. Keystone Resort, Colorado, USA, 2012/2/5-10.
7. Akihiko Yoshimura AND Reiko Takahashi. Role of SOCS1 in Treg plasticity and functions. International Conference on T cell Differentiation and Plasticity of T cells, Newport Beach, California, USA, 2012/2/3-5.
8. TAMIYA Taiga. Smad2 and Smad3 are essential for TGF- β -mediated Th9 development. Keystone symposium *Emerging Topics in Immune System Plasticity: Cellular Networks, Metabolic Control, and Regeneration*. Santa Fe, New Mexico, USA, 2013/1/15-20.
9. Takashi Shichita, Ryota Sakaguchi, and Akihiko Yoshimura. Pivotal roles of innate immunity in cerebral post-ischemic inflammation. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.
10. Shigeo Koyasu, Hiroki Kabata, Satoshi Koga, Koichiro Asano, and Kazuyo Moro. TSLP induces corticosteroid resistance of NH cell and evokes steroid-resistant severe asthma. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

③ポスター発表 (国内会議 17 件、国際会議 40 件)

〈国内〉

1. Toshiyuki Hayashi, Shigenori Nagai, Hideyuki Fujii, Yukiko Baba, Eiji Ikeda, Takeshi Kawase, and Shigeo Koyasu. Critical roles of NK and CD8⁺ T cells in central nervous

system listeriosis.」18th Internatinal Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2009、金沢、2009/7/3.

2. Shigenori Nagai, Taketo Yamada, Yukiko Baba, Yoichiro Iwakura, Shigeo Koyasu. 「Critical role of IL-17A in *Helicobacter pylori*-induced gastritis.」The 9th World Congress on Inflammation、東京、2009/7/8.

3. 千葉紗由利, 永井重徳, 永井 武, 小安重夫. 「Role of internalin B, in the gastrointestinal infection with *Listeria monocytogenes*. 」第9回あわじしま感染症・免疫フォーラム、兵庫、2009/9/9.

4. Haruki Funao, Ken Ishii, Shigenori Nagai, Aya Sasaki, T. Hoshikawa, Mamoru Aizawa, Yasunori Okada, Kazuhiro Chiba, Shigeo Koyasu, Yoshiaki Toyama, Morio Matsumoto. 「Establishment of quantitative model of *Staphylococcal* osteomyelitis using bioimaging techniques.」 The 9th World Congress on Inflammation、東京、2009/7/8.

5. 千葉 紗由利, 永井 重徳, 永井 武, 小安 重夫. 「リステリア腸管感染における病原因子 Internalin Bの役割」第39回日本免疫学会総会・学術集会、大阪、2009/12/2-4.

6. 池尻藍, 永井 重徳, 小安 重夫. 「The oxygen concentration is a key mediator in the development of Th17 cells」第7回がんとハイポキシア研究会、京都、2009/12/5.

7. 吉田秀之, 吉村昭彦. 「ヘルパーT細胞サブセットTh17とiTregの分化を規定するシグナルの探索」第82回日本生化学会大会、神戸、2009/10/24.

8. Shigenori Nagai, Ryosuke Katori, Munenori Oyama, Shigeo Koyasu. Establishment of a novel collagen-induced arthritis model by DC-manipulation. JSICR-MMCB 2011 Osaka. 2011/5/25-27.

9. Yamada Satoshi and Akihiko Yoshimura. 「Sensitivity analysis of computer model of helper T cell differentiation.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.

10. HASEGAWA Eiichi. 「IL-23-independent induction of IL-17 from $\gamma \delta$ T cells promotes experimental intraocular neovascularization.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.

11. ISO Midori. 「Role of TLRs in the induction of collagen-induced arthritis.」第41回日本免疫学会学術集会、神戸、2012/12/5-7.

12. 七田 崇, 黒田 和道, 石井 哲郎, 三宅 健介, 吉村 昭彦. 「脳における炎症開始因子としてのperoxiredoxinの役割」第85回日本生化学会大会、福岡、2012/12/14-16.

13. 長谷川 英一, 七田 崇, 大島 裕司, 武田 篤信, 園田 康平, 石橋 達朗, 吉村 昭彦. 「眼内血管新生における $\gamma \delta$ T細胞のIL-17産生機構の検討」第85回日本生化学会大会、福岡、2012/12/14-16.

14. 長谷川 英一, 七田 崇, 森田 林平, 木村 彰宏, 関谷 高史, 大島 裕司, 武田 篤信, 園田 康平, 石橋 達朗, 吉村 昭彦. 「脈絡膜血管新生におけるIL-17産生 $\gamma \delta$ T細胞の関与」第40回日本臨床免疫学会総会、東京、2012/9/27-29.

15. 武藤 剛, 新倉 芹菜, 森田 林平, 小林 隆志, 吉村 昭彦. 「TRAF6は制御性T細胞のTh2型炎症の抑制に関与する」第40回日本臨床免疫学会総会、東京、2012/9/27-29.
16. 高橋 令子, 伊藤 健司, 木村 文彦, 吉村 昭彦. 「炎症状態下の制御性T細胞におけるSOCS1の役割」第40回日本臨床免疫学会総会、東京、2012/9/27-29.
17. 永井重徳, 紅林泰, 池尻藍, 大谷真志, 馬場夕紀子, 星居孝之, 平尾敦, 松田達志, 小安重夫. 「PI3K-Akt-mTORC1-S6K 経路は Th17 分化を制御する」第 35 回日本分子生物学会、福岡、2012/12/11-14.

〈国際〉

1. Tomohito Takimoto, Yu Wakabayashi, and Akihiko Yoshimura. TGF- β mediated immunosuppression requires both Smad2 and Smad3 through Foxp3-independent mechanisms. 2009 Keystone Symposia Regulatory T cells, Keystone, Colorado, 2009/3/1-6.
2. Kenji Ichiyama and Akihiko Yoshimura. The reduction of Foxp3 expression by IL-6 mediates the production of IL-4. 2009 Keystone Symposia Regulatory T cells, Keystone, Colorado, 2009/3/1-6.
3. Shichita T, Ooboshi H, Kobayashi T, Sugiyama Y, Sugimori H, Cua DJ, Iwakura Y, Iida M, Yoshimura A. Pivotal role of cerebral interleukin-17-producing gammadeltaT cells in the late phase of ischemic brain injury. Brain'09, Chicago, USA, 2009/6/29-7/3.
4. S. Yamada, A. Yoshimura. Computer model of helper T cell differentiation. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
5. K. Ichiyama, A. Yoshimura. Analysis of molecular mechanism for ROR γ t expression. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
6. T. Ishizaki, A. Yoshimura. Spred1 negatively regulates mast cell proliferation and cytokine production. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
7. Yoshida, N. Ryusuke, A. Yoshimura. Preferential induction of Th17 cells in vitro and in vivo by Fucogalactan from Ganoderma lucidum (Reishi). The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
8. R. Takahashi, A. Yoshimura. SOCS1 is necessary for stable expression of Foxp3 and suppression of IFN- γ production in nTregs. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
9. T. Sekiya, A. Yoshimura. Elucidation of the epigenetic basis for Foxp3 induction. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
10. S. Nishimoto, R. Nakagawa, A. Yoshimura. SOCS3 regulates stabilization of Foxp3 expression and the function in regulatory T cells. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.
11. R. Nakagawa, S. Nishimoto, I. Osawa, M. Asakawa, A. Yoshimura. Suppressors of cytokine signaling-1 up-regulates the function of regulatory T cell via the maintenance

of Foxp3 expression. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

12 A. Uto-Konomi, S. Suzuki, A. Yoshimura, D. Cua, M. Kubo. IL-6-STAT3 axis in keratinocyte is involved in initiation of psoriatic like skin inflammation in keratinocyte-specific SOCS3 deficient mice. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

13. Y. Sekine, C. Yamamoto, A. Yoshimura, T. Matsuda. STAP-2 modulates activation-induced cell death by influencing caspase-8 activation. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

14. M. Hashimoto, A. Yoshimura. SOCS1 is essential for proper development of iNKT cells and suppression of NTK cell activity. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

15. K. Inagaki-Ohara A. Yoshimura, S. Kato, Y. Minokoshi, G. Matsuzaki. Requirement of leptin/leptin receptor signaling for the development of gastric cancer induced by SOCS3 loss in mice. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

16 T. Mori, A. Yoshimura. CP-690550, a Janus kinase inhibitor, suppresses IL-1-induced RANKL expression of synovial fibroblast and osteoblast via down regulation of phospho-STAT 3 in mouse and human rheumatic arthritis. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

17. T. Kobayashi, Y. Matsunaga, M. Kawasumi, S. Fukuyama, H. Inoue, A. Yoshimura. Loss of SOCS1 in B cells results in hyper IgE syndrome (HIES) and predisposes to allergy in mice. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

18. A. Ikejiri S. Nagai, S. Koyasu. Reoxygenation accelerates the differentiation of Th17 cells primed under hypoxia. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

19. S. Nagai, Y. Kurebayashi, Y. Baba, S. Koyasu. Role of phosphoinositide 3-kinase on helper T cell differentiation in Helicobacter pylori-induced gastritis. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

20. S. Chiba, T. Nagai, S. Koyasu. Role of Internalin B in the gastrointestinal infection of and host immune response to Listeria monocytogenes. The 14th International Congress of immunology, Kobe, 2010/8/22-27.

21. Kazuyo Moro, Shigeo Koyasu. Innate production of Th2 cytokines by adipose tissue-associated c-Ki^t+Sca-1⁺ lymphoid cells. Immunology 2010: 97th Annual Meeting, The American Association of Immunologists, Baltimore, USA, 2010/5/9.

22. Shigenori Nagai, Ryosuke Katori, Munenori Oyama, Shigeo Koyasu. Establishment of a novel collagen-induced arthritis model by manipulating dendritic cells. The 11th International Symposium on Dendritic Cells, Lugano, Switzerland, 2010/9/29.

23. Hideyuki Yoshida, and Akihiko Yoshimura. Differential effects of small molecule JAK inhibitors on T helper cell subset differentiation and autoimmune/allergy disease models. 9th Joint meeting of the ICS/ISICR, Firenze, Italy, 2011/10/9-12.

24. Akihiko Kimura and Akihiko Yoshimura. Aryl hydrocarbon receptor regulates innate immune responses to *Listeria monocytogenes*. 9th Joint meeting of the ICS/ISICR, Firenze, Italy, 2011/10/9-12.
25. Tomohiro Fukaya and Akihiko Yoshimura. Sprouty4 participate in the differentiation of Th17 cells. Keystone Resort, Colorado, USA, 2012/2/5-10.
26. Takashi Sekiya and Akihiko Yoshimura. Roles of the nuclear orphan receptor Nr4a2 in regulation of CD4 T cell differentiation and inflammatory diseases. Keystone Resort, Colorado, USA, 2012/2/5-10.
27. Midori Iso, Shigenori Nagai, Shigeo Koyasu. Role of TLRs in the induction of collagen-induced arthritis. The 12th International Symposium on Dendritic Cells, Daegu, Korea, 2012/10/7-11.
28. KASHIWAGI Ikkoh. Generation of tolerogenic dendritic cells by Smad2-deficiency. Keystone symposium *Emerging Topics in Immune System Plasticity: Cellular Networks, Metabolic Control, and Regeneration*, Santa Fe, New Mexico, USA, 2013/1/15-20.
29. Taiga Tamiya and Akihiko Yoshimura. Smad2/3 signaling is essential for TGF- β -mediated Th9 development. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.
30. Hiromi Abe, Akihiro Kimura, and Akihiko Yoshimura. Aryl hydrocarbon receptor plays protective roles in Con-A induced hepatic injury by both suppressing IFN- γ expression and inducing IL-22. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.
31. Ikkoh Kashiwagi and Akihiko Yoshimura. Different function of Smad2 and Smad3 in expression of TGF- β in dendritic cells. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.
32. Taisuke Kondo, Yasutoshi Ando, Takashi Sekiya, Yoshiyuki Ishii, Shin-Ichiro Takahashi, Akihiko Yoshimura, and Shigeru Kyuwa. Invariant natural killer T cells in mice communicate with adipocytes via interferon- γ and antigen presentation. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.
33. Yohei Mikami, Takanori Kanai, Shinta Mizuno, Atsushi Hayashi, Atsuhiko Matsumoto, Tango Handa, Nobuhiro Nakamoto, Toshiro Sato, Katuyoshi Matsuoka, Tadakazu Hisamatsu, Hirotoshi Ebinuma, Akihiko Yoshimura, and Toshifumi Hibi. Intestinal inflammation instructs increasing liver macrophages and dendritic cells to dispose liver to the inflammation. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.
34. Atsushi Hayashi, Takanori Kanai, Yohei Mikami, Toshiro Sato, Katsuyoshi Matsuoka, Tadakazu Hisamatsu, Akihiko Yoshimura, Nobuhiko Kamada, Hideo Yagita, Toshifumi Hibi. *Clostridium butyricum* induces intestinal IL-10-producing macrophages

that suppress acute cells. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

35. Akihiro Kimura, Sanae Tsuruta, and Akihiko Yoshimura. Aryl hydrocarbon receptor is important for macrophages survival and protection against *Listeria monocytogenes* infection. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

36. Akihiko Yoshizawa, Shigenori Nagai, Yukiko Baba, Tomoyasu Nishimura, Taketo Yamada, and Shigeo Koyasu. Development of pulmonary alveolar proteinosis in PI3K deficient mice. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

37. Takaharu Sasaki, Kazuyo Moro, Tetsuya Kubota, Naoto Kubota, and Shigeo Koyasu. The role of natural helper cells in obesity-associated insulin resistance. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

38. Takeshi Nagai, Akio Abe, Chihiro Sasakawa, and Shigeo Koyasu. Type III effectors of enteropathogenic *Escherichia Coli* (EPEC) regulate the host immunity. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

39. Yasutaka Motomura, Hideaki Morita, Kazuyo Moro, Susumu Nakae, Shigeo Koyasu, and Masato Kubo. IL-4 derived from basophil play a pivotal role in cysteine protease-induced natural helper cell-mediated lung inflammation. The joint international meeting of The 78th Meeting of The Japanese Society of Interferon and Cytokine Research and The 21st International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages 2013, Tokyo, 2013/5/20-21.

40. Mayu Suzuki and Akihiko Yoshimura Spred-1, a Negative Regulator of the Ras/ERK Pathway, Suppresses Protease Allergen-Induced Airway Inflammation Keystone symposium Vancouver, Canada 2014/1/20

(4)知財出願

①国内出願 (2 件)

②海外出願 (1 件)

③その他の知的財産権

なし

(5)受賞・報道等

①受賞

平成 24 年度 日本免疫学会奨励賞 七田 崇

平成 25 年度 日本インターフェロンスイトカイン学会 奨励賞 七田 崇

②マスコミ

新聞報道

科学新聞	免疫反応抑える細胞が造られる新たな仕組み	2013 年 2 月 8 日
毎日新聞	脳梗塞の悪化防げる	2012 年 6 月 19 日
科学新聞	脳梗塞を悪化させる新たなメカニズムを発見	2012 年 6 月 8 日
化学工業日報	脂質リン酸化酵素関与 自己免疫疾患で新見	2012 年 3 月 30 日
日刊工業	自己免疫疾患の一端解明 慶大、原因酵素を特定	2012 年 3 月 30 日
科学新聞	自己免疫疾患の発症を抑える新しいメカニズム	2011 年 6 月 3 日
毎日新聞	脳梗塞の炎症機序の解明について	2009 年 8 月 3 日

プレス発表

1. 平成 25 年1月 21 日 免疫反応を抑える細胞が作られる新たな仕組みを発見
<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20130121/>
2. 平成 24 年 5 月 21 日 脳梗塞を悪化させる新規メカニズムを発見
<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120521/>
3. 平成24年3月30日 自己免疫疾患の原因となる免疫細胞が増える新たな仕組みを発見 —
副作用の少ない治療法の開発に期待—<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20120330/>
4. 平成23年2月9日 腸における炎症を抑える新しいメカニズムを発見(PGE2の消化管におけ
る免疫抑制作用を発見した. <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20110209/>
5. 平成23年5月20日 自己免疫疾患の発症を抑える新しいメカニズムを発見 Th17分化を制
御する因子としてEomesoderminを発見した。 <http://www.jst.go.jp/pr/announce/20110520/>
6. 平成21年8月3日 脳梗塞における病態進行の仕組みを解明
<http://www.jst.go.jp/pr/announce/20090803/>

③その他

特になし

(6)成果展開事例

①実用化に向けての展開

- ・ JST さきがけ事業に採択され現在実施中である。
課題名「IL-33 産生を伴う慢性疾患と加齢や肥満により増加したナチュラルヘルパー細胞が
Th1/Th2 バランスの破綻を惹起するメカニズムの解明」(H22～27) 茂呂 和世
課題名「脳組織傷害後の慢性炎症における免疫制御機構の解明」(H23～28) 七田 崇
- ・ セミナーなどで研究者に対し、本研究で発見した Th17 スクリーニング法や NR4a について紹
介・指導を行っている。
- ・ TH17 阻害により自己免疫疾患治療の技術開発について複数の企業の研究指導を行ってい
る。

②社会還元的な展開活動

- ・ 得られた成果の一部を日本免疫学会のアウトリーチ活動『免疫ふしぎ未来』(2011 8/21 およ
び 2013 8/11 東京未来科学館)にて一般向けに解説した。

- 本研究成果をインターネット(URL: <http://new.immunoreg.jp/>)で公開し、一般に情報提供している。

§ 6 研究期間中の活動

6. 1 主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2011 年 8 月 20 日	免疫ふしぎ未来	日本未来科学館	1500	一般向け講演会および展示

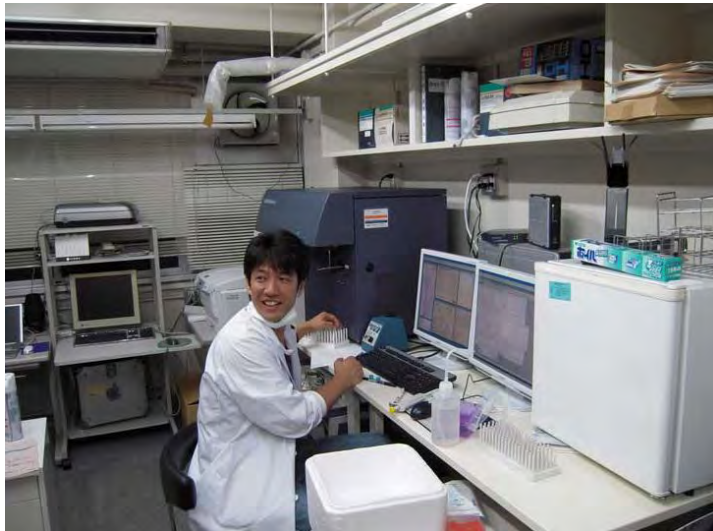
§ 7 最後に

ご支援いただいた期間はチームとしてまとまった充実した時期であったと思います。

当初の免疫リプログラミングの目標は NR4a の発見としてある程度は結実しましたが、まだ本来の意味での免疫応答の正を負に転換して人為的に変更するに至っていません。しかし epigenetic 薬剤の使用やストローマ細胞との培養、あるいは複数の転換遺伝子を導入によって可能になりつつあり、引き続きご支援を賜りたい。研究費は、繰り越しなどが比較的自由に、変更の承諾も得やすく、非常に使い勝手のよいものでした。

写真

細胞をソーテングしている様子



細胞培養室



合同セミナー合宿の様子。

