

機関番号：32607

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590454

研究課題名 (和文) 結核菌糖脂質の肉芽腫形成の分子論的解析

研究課題名 (英文) Mechanism of granuloma formation by mycobacterial glycolipids

研究代表者

滝本 博明 (Takimoto Hiroaki)

北里大学・理学部・講師

研究者番号：00253534

研究成果の概要 (和文)：結核菌細胞壁に存在する主な脂質として、lipoarabinomannan (LAM)、phosphatidylinositol dimannosides (PIM) や trehalose dimycolate (TDM) が知られているが、なかでも TDM は肺結核において観察される肉芽腫形成を強く誘導する糖脂質として注目されている。結核菌より抽出した TDM をマウスに投与すると、投与早期の肺において活性化 $\alpha\beta$ 型 T 細胞および $\gamma\delta$ 型 T 細胞が増加していた。特に、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞によって炎症性サイトカインである IL-17 が産生されていたが、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞は IL-17 を産生していなかった。TDM を投与する前に、抗 $\gamma\delta$ TCR 抗体を用いて $\gamma\delta$ 型 T 細胞を除去することにより肉芽腫形成が顕著に減弱したことから、この $\gamma\delta$ 型 T 細胞は TDM による肉芽腫形成誘導に関与していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：Pathogenicity of *Mycobacterium tuberculosis* is closely related to lipid components, present in the cell wall, especially trehalose dimycolate (TDM) which induces formation of pulmonary granuloma during tuberculosis. TDM was emulsified as w/o/w and injected intravenously into C57BL/10ScSn mice. Inflammatory responses were found in lungs at the early stage of TDM injection. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells were observed in lung mononuclear cells at the early stage of TDM injection. The infiltration of neutrophils and the number of granulomas was decreased in $\gamma\delta$ T cell-depleted mice as compared with control mice at 2 and 7 days after TDM injection. The $\gamma\delta$ T cells contribute infiltration of neutrophils into inflammatory sites at the early stage and involved in granuloma formation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・細菌学 (含真菌学)

キーワード：感染免疫

1. 研究開始当初の背景

結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* によって引き起こされる結核症は、いまだに世界の総人口の約 1/3 にあたる 20 億人が感染しており、毎年 920 万人が発症し、170 万人が死亡している世界最大の感染症である。肺結核の基本的な病変は、結核菌の細胞内寄生による細胞性免疫反応によって引き起こされる慢性肉芽腫性炎症であり、これが進行して乾酪性病巣の生成と空洞の形成が起こる。結核菌は経気道的に侵入して肺胞マクロファージに貪食されるが、ファゴソーム内で殺菌機構から逃れて増殖し、肺胞マクロファージへの感染が成立する。結核菌に感染したマクロファージは、他のマクロファージや免疫担当細胞を動員して、結核に特徴的な病態である肉芽腫と呼ばれる構造を形成させる。肉芽腫の形成は結核菌の封じ込めや制御に働くと考えられており、宿主の結核防御応答において非常に重要である。しかし、肉芽腫形成の詳細な分子メカニズムについてはいまだに明らかになっていない。

2. 研究の目的

M. tuberculosis や *M. bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) などミコバクテリアの菌体表層には、phosphatidylinositol dimannosides (PIM)、lipomannan (LM)、lipoarabinomannan (LAM)、trehalose monomycolate (TMM)、trehalose dimycolate (TDM) といった様々な脂質が存在しており、これらは感染時に菌体から放出されてマクロファージのサイトカイン産生を誘導する。TDM は *M. tuberculosis* の細胞

壁の主要な構成成分であり、マクロファージ活性化および肉芽腫の形成と維持に必要な連鎖的な反応に関与している。また、TDM は結核菌細胞壁に含まれる他の糖脂質である LAM や PIM に比べて強い肉芽腫誘導活性をもつことが示されている。さらに、TDM は *in vivo* および *ex vivo* においてサイトカイン産生を強力に誘導し、*in vitro* において好中球の遊走を誘導することが報告されている。

好中球は、結核感染において TNF- α や IL-12 などのサイトカインを産生して、菌の増殖を抑制し、また肉芽腫の形成を誘導することが報告されている。最近、好中球の遊走および活性化を引き起こすサイトカインとして、IL-17 が発見された。IL-17 は T 細胞から産生される前炎症性サイトカインであり、CXC ケモカインや IL-6、IL-8、G-CSF および TNF- α の産生を介して、好中球の遊走および活性化を引き起こすことが示されている。また、IL-17 は肺への好中球の遊走の引き金となっていることが示されており、BCG 感染における宿主防御に重要であることが報告されている。

自然免疫において、細菌やウイルスの pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) を認識する重要な分子として Toll-like receptor (TLR) の存在が知られている。結核菌糖脂質 LM や PIM は TLR2 のアゴニストとしてマクロファージなどを活性化し、前炎症性サイトカインを産生して炎症を惹起することが報告されている。TDM は TLR2 依存的にマクロファージを活性化し

て前炎症性サイトカインを産生し、肉芽腫形成を誘導することが明らかとなっている。しかし、TLR2 欠損マウスに TDM を投与した場合にも、肉芽腫の形成には至らないが、一過性の肺間質への炎症細胞の浸潤が引き起こされた。そこで、本研究ではこの TLR2 非依存的な一過性の炎症の誘導機序を明らかとするために解析を行い、結核菌糖脂質 TDM により TLR2 非依存的にも肺単核球から IL-23 や IL-17 などの前炎症性サイトカインが産生されること、また TDM によって産生される IL-17 は $\alpha\beta$ 型 T 細胞からではなく $\gamma\delta$ 型 T 細胞から産生されることが明らかとなった。

3. 研究の方法

マウス C57BL/10ScSn (野生型, Sn)マウス、TLR2^{-/-} マウス (Sn background) (すべて Max-Planck-Institute of Immunobiology から供与された)の 6-9 週齢のマウスを用いた。マウスは specific pathogen-free 環境下で飼育した。すべての実験は、北里大学理学部実験動物使用規則に従って行った。

TDM TDM は Yano らの方法で *M. tuberculosis* H37Rv 株から抽出した。TDM の純度は TLC のシングルスポットにより、他の成分の混入が認められないことを確認した。10 μg の TDM を 6.4 μl の Freund's incomplete adjuvant (FIA) (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) に溶解したのち、0.1 M phosphate-buffered saline (PBS) を 6.4 μl 加えて water-in-oil エマルジョンを作製した。さらに 0.2% Tween 80 (Invitrogen Corporation, CA, USA) を添加した PBS を

187.2 μl 加えて混和し w/o/w エマルジョンを作製した。作製した w/o/w エマルジョンは、TDM 10 $\mu\text{g}/0.2 \text{ ml}/\text{mouse}$ となるようにマウスの尾静脈に投与した。対照として TDM を加えずに作製した w/o/w emulsion を用いた。**臓器重量インデックス** マウスをエーテル麻酔したのち、マウス体重を測定した。さらに、採取後の肺、肝臓および脾臓の重量を測定した。これらの値から次式により臓器重量インデックスを算出した。臓器重量インデックス = {臓器重量(g) ÷ マウス体重(g)} × 100

組織学的解析 マウスをエーテル麻酔して肺、肝臓および脾臓を採取し、4% paraformaldehyde (PFA) で固定してパラフィンに包埋した。3 μm に薄切しヘマトキシリンおよびエオジン (H&E) で染色して光学顕微鏡で観察した。

気管支肺胞洗浄液 (BALF) の細胞観察 マウスをエーテル麻酔したのち、0.1% ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) in PBS 1 ml を用いて気管支肺胞洗浄を行って BALF を得た。5%ギムザ染色液 (Merck, Darmstadt, Germany)で染色した標本は、光学顕微鏡で観察し、白血球を総計 300 個以上計測して、肺胞マクロファージ、リンパ球および好中球について百分率を求めた。

BALF のサイトカインの測定 BALF は、サイトカイン測定まで -80 °C に保存した。上清中の TNF- α は、BD OptEIA™ Mouse TNF (Mono/Mono) ELISA Set (BD) を用いて測定した。IL-17 は Qantikine® Mouse IL-17

Immunoassay kit (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA) を用いて測定した。

肺単核球の調製 マウスをエーテル麻酔したのち、気管支肺胞洗浄を行って肺胞マクロファージを除去し、PBS を用いて心臓より還流脱血を行ったのちに肺を採取した。採取した肺はハサミで細切し、IV型コラゲナーゼ (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA) 185U/ml in 10% ウシ新生仔血清 (NBCS) (Invitrogen) 含有 RPMI1640 培地 (Invitrogen) を加えて 37 °C で 1 時間反応させた。細胞浮遊液を 45% パーコール液 (GE Healthcare UK Ltd., Buckinghamshire, England) 3 ml に懸濁し、これを 67.5% パーコール液 3 ml に重層させて室温にて 700 x g で 30 分間遠心した。遠心後、界面に集合した単核球を得た。得た単核球は、RT-PCR、フローサイトメトリーおよび real-time PCR に使用した。

肺 $\gamma\delta$ 型 T 細胞の単離 肺単核球にビオチン化抗マウス T 細胞受容体 $\gamma\delta$ 鎖 (TcR $\gamma\delta$) 単クローン抗体 (BD) を加え、抗ストレプトアビジンマイクロビーズ (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) を用いて $\gamma\delta$ 型 T 細胞を単離した。フローサイトメトリーにて $\gamma\delta$ 型 T 細胞の純度を確認したところ、86%以上であった。

RT-PCR 肺単核球 (1 x 10⁶ cells) および肺 $\gamma\delta$ 型 T 細胞からの RNA 抽出は、TRIzol™ (Invitrogen) の説明書に従い行った。Transcriptor First Strand cDNA synthesis

Kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) を用いて cDNA を合成した。得た cDNA に各プライマーを加えて、ExTaq DNA polymerase (TAKARA BIO INC., Shiga, Japan) を用いて PCR を行った。各プライマーは、 β -actin (sense: tgg aat cct gtg gca tcc atg aaa c, antisense: taa aac gca gct cag taa cag tcc g, 349 bp)、IL-23p19 (sense: ggg aac aag atg ctg gat t, antisense: ctt cac act gga tac gg, 235 bp)、IL-17A (sense: gct cca gaa ggc cct cag a, antisense: agc ttt ccc tcc gca ttg a, 142 bp)、TNF- α (sense: ggc agg tct act ttg gag tca ttg c, antisense: aca ttc gag gct cca gtg aat teg g, 309 bp)、IFN- γ (sense: agc ggc tga ctg aac tca gat tgt ag, antisense: gtc aca gtt ttc agc tgt ata ggg, 213 bp)、RANTES (sense: tct tct ctg ggt tgg cac aca c, antisense: cct cac cat cat cct cac tgc a, 215 bp)、Mig (sense: ggg caa gtg tcc ctt tcc ttc, antisense: ggg ctc tag gct gac cca aat, 199 bp)、MIP1- α (sense: gaa gag tcc ctc gat gtg gct a, antisense: ccc ttt tct gtt ctg ctg aca ag, 561 bp)、MIP-2 (sense: tgg gtg gga tgt agc tag ttc c, antisense: agt ttg cct tga ccc tga agc c, 466 bp)、MCP-1 (sense: gga aaa atg gat cca cac ctt gc, antisense: tct ctt cct cca cca cca tgc ag, 582 bp) を使用した。PCR 反応条件は、 β -actin (94 °C 3分、(94 °C 1分、58 °C 30秒、72 °C 30秒) を 30 サイクル、72 °C 7分)、IL23p19、IL-17A、TNF- α および IFN- γ については (94 °C 3分、(94 °C 1分、58 °C 30秒、72 °C 30秒) を 35 サイクル、72 °C 7分)、RANTES、Mig、MIP1- α 、MIP-2 および MCP-1 については (94 °C 3

分、(94 °C 1分、55 °C 30秒、72 °C 30秒)を35サイクル、72 °C 7分)で行った(iCycler™ Thermal Cycler Dual Block, Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA)。各PCR産物は2%アガロースゲル(Agarose S, NIPPON GENE CO., LTD., Tokyo, Japan)で電気泳動し、エチジウムブロマイドで染色してUV照射下で写真撮影を行った。

フローサイトメトリー 肺単核球をCD16/32抗体(2.4G2)と30分間反応させたのちに、以下に示す抗体と30分間反応させた。洗浄したのちstreptavidin-PECy5と20分間反応させた。洗浄したのち1% PFA in PBSにて固定し、Epics ELITE(Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA)にて分析し、Expo32(Beckman)にて解析した。抗体は、FITC化抗マウスCD69単クローン抗体、PE化抗マウスCD3ε鎖単クローン抗体、ビオチン化抗マウスT細胞受容体β鎖(TcRβ)単クローン抗体、ビオチン化抗マウスT細胞受容体γδ鎖(TcRγδ)単クローン抗体、PE化抗マウスCD8単クローン抗体およびビオチン化抗マウスDX5単クローン抗体をBDより購入して用いた。

細胞内サイトカイン染色フローサイトメトリー 肺単核球に細胞刺激液(終濃度:25 ng/ml phorbol myristate acetate (PMA)(Sigma), 500 ng/ml Ionomycin (Sigma), BD Golgistop™ (BD)を加えて5% CO₂ インキュベータにて37 °Cで4時間培養した。細胞を回収して洗浄したのち、CD16/32抗体(2.4G2)と30分間反応させたのちに、洗浄し、以下に示す抗体と30分間反応させた。

洗浄したのちstreptavidin-PECy5と20分間反応させた。洗浄したのちBD Cytofix/Cytoperm™ (BD)を加えて20分間反応させて細胞を固定した。洗浄したのち、以下に示す抗体と30分間反応させた。細胞を懸濁してEpics ELITE(Beckman)にて分析し、Expo32(Beckman)にて解析した。抗体は、ビオチン化抗マウスTcRβ単クローン抗体、ビオチン化抗マウスTcRγδ単クローン抗体、ビオチン化抗マウスDX5単クローン抗体、FITC化ラットIgG1単クローン抗体(isotype-control)、PE化ラットIgG1単クローン抗体(isotype-control)、FITC化抗マウスIFN-γ単クローン抗体およびPE化抗マウスIL-17単クローン抗体をBDより購入して用いた。

In vitroでの肺単核球によるサイトカイン産生 抗マウスTcRγδ単クローン抗体(UC7-13D5)を用いて、TDMを投与したマウスより調製した肺単核球を刺激した。培養上清中のTNF-αは、BD OptEIA™ Mouse TNF(Mono/Mono) ELISA Setを用いて測定した。IL-17はQantikine® Mouse IL-17 Immunoassay kitを用いて測定した。

γδ型T細胞受容体レパートアの解析 肺単核球より抽出した全RNAよりcDNAを複製し、cDNAに各プライマーを加えてExTaq DNA polymeraseを用いてPCRを行った。各プライマーは、Cγ(ctt atg gag att tgt ttc age)、Vγ1/2(aca cag cta tac att ggt ac, 320 bp)、Vγ2(cgg caa aaa aca aat caa cag, 300 bp)、Vγ4(tgt cct tgc aac ccc tac cc, 270 bp)、

V γ 5 (tgt gca ctg gta cca act ga, 310 bp)、V γ 6 (gga att caa aag aaa aca ttg tct, 270 bp)、V γ 7 (aag cta gag ggg tcc tct gc, 380 bp)、C δ (cga att cca caa tct tct tg)、C δ 1 (att cag aag gca aca atg aaa g, 260 bp)、V δ 2 (agt tcc ctg cag atc caa gc, 270 bp)、V δ 3 (ttc ctg gct att gcc tct gac, 300 bp)、V δ 4 (cgc ctt ctc tgt gaa ctt cc, 310 bp)、V δ 5 (cag atc ctt cca gtt cat cc, 370 bp)、V δ 6 (ctt agt gga gag atg gtt tt, 270 bp)、V δ 7 (cgc aga gct gca gtg taa ct, 420 bp)、V δ 8 (aag gaa gat gga cga ttc ac, 280bp)。PCR 反応条件については、94 °C 3 分、(94 °C 1 分、56 °C 30 秒、72 °C 30 秒) を 35 サイクル、72 °C 7 分で行った (iCycler™ Thermal Cycler Dual Block, Bio-Rad)。各 PCR 産物は 2%アガロースゲルで電気泳動し、ナイロンメンブレン (Hybond-N™) (GE Healthcare) に DNA を転写した。これに DIG ラベルした DNA プローブ (pan C γ : ttc agc aac aga agg aag gaa aat agt, C δ -5' internal-2 (anti-sense): ctg agg ctt ata gtc acc tc) を含む DIG Easy Hyb (Roche) を加えて 42 °Cで一晩反応させた。メンブレンを 0.2 x SSC, 0.1% SDS で洗浄したのち、DIG Luminescent Detection Kit (Roche) を用いて検出した。

リアルタイム PCR 肺 γ δ 型 T 細胞より抽出した全 RNA から cDNA を合成し、cDNA に各プライマーおよびプローブを加えて FastStart Universal Probe Master (ROX) (Roche) を用いてリアルタイム PCR を行った。プライマー配列およびプローブは、GAPDH (sense: agc ttg tca tca acg gga ag,

antisense: ttt gat gtt agt ggg gtc ctc g, probe: Universal ProbeLibrary, Probe #9 (Roche))、IL-17A (sense: cag gga gag ctt cat ctg tgt, antisense: gct gag ctt tga ggg atg at, probe: Universal ProbeLibrary, Probe #74 (Roche))、IFN- γ (sense: atc tgg agg aac tgg caa aa, antisense: ttc aag act tca aag agt ctg agg ta, probe: Universal ProbeLibrary, Probe #21 (Roche))。リアルタイム PCR 反応条件については、95 °C 10 分、(95 °C 15 秒、60 °C 1 分)×40 サイクルで行った (Mx3000, Stratagene)。データ解析は、MxPro – Mx3000P (Stratagene)で行った。

統計解析 統計解析はスチューデントの *t* 検定により行った。

4. 研究成果

TDM による炎症誘導作用の組織学的検討

TDM を w/o/w エマルジョンとしてマウスに投与すると肺に肉芽腫が形成されることが報告されている。この方法を用いて TDM を C57BL/10ScSn (野生型) マウスに投与し、肺、肝臓および脾臓における炎症の有無を検討するため、臓器重量インデックスを測定した。TDM 投与 7 日後に肺重量インデックスが対照と比較して 1.5 倍増加した。肝臓重量インデックスについては投与 14 日後に対照と比較して 1.2 倍増加していたが、脾臓重量インデックスに関しては大きな変化は見られなかった。

TDM 投与により臓器重量インデックスが増加したことから、炎症惹起が示唆された

め、各臓器を組織学的に観察した。肺においては、投与 2 日後に肺胞壁の肥厚および肺間質への炎症細胞の浸潤が認められ、5 日後には肉芽腫が形成されはじめ、7 日後には肉芽腫が認められた。しかし、投与 14 日後には肉芽腫が消失し、28 日後には肺胞壁の肥厚も認められなかった。肝臓及び脾臓においては、TDM 投与による組織学的変化は認められなかった。

肺胞における炎症細胞の浸潤の検討

TDM は肺において初期に炎症を引き起こすことが示されたため、TDM 投与後に気管支肺胞洗浄を行って、BALF の細胞における肺胞マクロファージ、リンパ球および好中球の占める割合を算出した。肺胞マクロファージの占める割合は投与 2 日後から減少しはじめ、投与 7 日後に对照と比較して 82%まで減少し、リンパ球の占める割合は对照と比較して 1.8 倍まで増加した。また、好中球の占める割合は投与 2 日後から増加しはじめ、投与 5 日後に对照と比較して 3.3 倍に増加していた。このことから TDM はリンパ球や好中球などの炎症細胞の肺胞腔への浸潤を引き起こすことが示された。

次に BALF のサイトカインを測定したところ、肉芽腫の形成に重要なサイトカインである TNF- α の産生が、TDM の投与から 1 日後には对照と比較して 3.1 倍、2 日後には 3.3 倍、7 日後には 1.9 倍に増加していた。なお、炎症惹起に重要なサイトカインである IL-17 に関しては検出限界以下であった。

これらの結果から、TDM 投与によって、リンパ球や好中球が肺胞腔へ浸潤し、肺胞の

TNF- α 産生が増加することが示された。

肺単核球におけるサイトカインおよびケモカイン mRNA 発現誘導の検討

TDM 投与が肺における肉芽腫形成や肺胞腔への炎症細胞の浸潤を引き起こしたため、肺単核球のサイトカインおよびケモカイン mRNA 発現を経時的に解析したところ、投与から 1 日後および 2 日後において、IL-17 の産生を惹起するサイトカインである IL-23p19 の mRNA 発現が増加していた。また、TDM 投与から 2 日後をピークとして、炎症の惹起に重要なサイトカインである IL-17A の mRNA 発現が増加していた。肉芽腫形成に重要なサイトカインである TNF- α 、IFN- γ および炎症細胞の浸潤を引き起こすケモカインである MIP-2 の mRNA は投与 1 日後から 7 日後まで発現していた。これらの結果から、TDM は肺単核球のサイトカインおよびケモカイン産生を誘導することが示された。

$\gamma\delta$ 型 T 細胞における IFN- γ および IL-17 産生誘導の検討

TDM により IFN- γ および IL-17 が産生されたため、これらのサイトカインの産生細胞を同定するため、フローサイトメトリーを用いて検討を行った。まず、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞および $\gamma\delta$ 型 T 細胞の活性化について活性化マーカーである CD69 発現を指標に解析した。CD69 発現は、投与 1 日後に $\alpha\beta$ 型 T 細胞において对照と比較して 2.5 倍、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞において 3.0 倍増加し、投与 7 日後に $\alpha\beta$ 型 T 細胞において 4.7 倍増加した (Fig. 5)。つぎに、細胞内サイ

トカイン染色フローサイトメトリーによって、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞および $\gamma\delta$ 型 T 細胞の IFN- γ および IL-17 産生を検討した。IFN- γ 産生細胞について解析したところ、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞については対照が $3.0 \pm 0.9\%$ であったのに対して投与 7 日後に $7.6 \pm 0.5\%$ まで増加し、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞については対照が $4.4 \pm 0.2\%$ であったのに対して投与 1 日後に $11.7 \pm 2.6\%$ に、投与 7 日後には $12.0 \pm 0.9\%$ まで増加した。IL-17 産生細胞について解析したところ、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞については IL-17 産生細胞の増加はみられなかったが、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞については対照が $4.7 \pm 1.7\%$ であったのに対して投与 1 日後に $6.8 \pm 2.0\%$ に増加した。また、TDM 投与後の肺単核球を抗マウス TcR $\gamma\delta$ 単クローナル抗体で刺激し、培養上清中の IL-17 を ELISA によって測定したところ、投与 2 日後に $\gamma\delta$ 型 T 細胞からの IL-17 産生が対照と比較して 4.9 倍増加していた。

次に、TDM 投与後の肺単核球から磁気ビーズ分離法 (MACS) を用いて $\gamma\delta$ 型 T 細胞を単離し、T 細胞受容体のレパートアを検討したところ、V γ 6 および V δ 1 が増加していた。

これらの結果から、TDM は $\alpha\beta$ 型 T 細胞のみならず $\gamma\delta$ 型 T 細胞も活性化し、IFN- γ や IL-17 の産生を引き起こすことが示された。また、これらのサイトカインを産生するのは V γ 6+V δ 1+ $\gamma\delta$ 型 T 細胞であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Takimoto, H., H. Kato, M. Kaneko, and Y. Kumazawa. 2008. Amelioration of skewed

Th1/Th2 balance in tumor-bearing and asthma-induced mice by oral administration of *Agaricus blazei* extracts. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 30:747-760.

2. Kaneko, M., H. Takimoto, Y. Seki, K. Kawaguchi, and Y. Kumazawa. 2008. Suppressive effects of flavonoids quercetin and luteolin on lipid raft accumulation following signal transduction via receptors. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 30:867-882.
3. Kubota, M., H. Takimoto, M. Kaneko, J. Inoue, and Y. Kumazawa. 2009. Potentiation of murine innate immunity by α -galacturonosyl-type glycosphingolipids isolated from *Sphingomonas yanoikuyae* and *S. terrae*. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 31:363-369.

[学会発表] (計 5 件)

1. 齋藤昂良、滝本博明、矢野郁也、熊沢義雄
結核菌糖脂質 trehalose 6,6'-dimycolate (TDM)による炎症誘導作用 第38回日本免疫学会総会学術集会 (京都) 2008.12.2 [日本免疫学会学術集会記録 第38巻:158]
2. 齋藤昂良、滝本博明、矢野郁也、熊沢義雄
結核菌糖脂質 trehalose 6,6'-dimycolate (TDM)による炎症誘導作用 第82回日本細菌学会総会 (名古屋) 2009.3.13 [日本細菌学雑誌 第64巻(1):191]

3. 齋藤昂良、滝本博明、矢野郁也、熊沢義雄
結核菌糖脂質 trehalose 6, 6'-dimicolate
による肉芽腫形成における IL-17 産生 $\gamma\delta$
型 T 細胞の役割 第 92 回日本細菌学会関
東支部総会（東京）2009.11.5 [第 92 回
日本細菌学会関東支部総会講演抄録集
p.42]
4. 齋藤昂良、滝本博明、矢野郁也、熊沢義雄、
服部雅一 結核菌糖脂質 trehalose 6,
6'-dimicolate (TDM)による肉芽腫形成に
おける $\gamma\delta$ 型 T 細胞の役割 第 83 回日本細
菌学会総会（横浜）2010.3.29 [日本細菌
学雑誌 第 65 卷（1）:183]
5. 滝本博明、今野誠、榎原典光、原耕三、山
口徹 ガニアシフコイダンの抗インフル
エンザ作用の検討日本薬学会第 130 年会
（岡山） 2010.3.30 [ファルマシア 46
卷（2）付録:197]

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

滝本 博明 (Takimoto Hiroaki)

北里大学・理学部・講師

研究者番号：00253534

(2) 研究分担者

熊沢 義雄 (Kumazawa Yoshio)

いわき明星大学・薬学部・客員研究員

研究者番号：30072375