

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009 年度～2011 年度

課題番号：21390147

研究課題名（和文）メモリーTh1/Th2 細胞の形成と機能維持のエピジェネティック制御に関する研究

研究課題名（英文）Memory Th1/Th2 cell differentiation and its epigenetic regulation

研究代表者 中山 俊憲

(NAKAYAMA Toshinori)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：50237468

研究成果の概要（和文）：免疫が関与する難治性の慢性疾患（成人の喘息、アトピー性皮膚炎など）の治療法の開発には、免疫記憶細胞の形成の分子機構を明らかにすることが肝要である。本研究では、メモリーTh1/Th2 細胞の形成機構とアレルギー反応・病態形成の制御に関する解析を行った。その結果、ポリコム複合体の EZH2 やトライソラックス複合体の Men-1 が Th2 細胞の分化や機能維持に大きな役割を果たしていることが分かった。

研究成果の概要（英文）：“Immunological Memory” is a central theme in acquired immunity. The findings from the research on “Immunological Memory” will contribute to the development of more effective and safer vaccines against infectious diseases, as well as can be beneficial to the development of therapeutic vaccines for controlling so called pathogenic immune memory cells that trigger allergy or autoimmune diseases, and furthermore, to the development of vaccines for cancer. In this study, we found that Polycomb group molecule EZH2 and Trithorax group molecules Men-1 control the generation and functional maintenance of Th2 memory cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	6,100,000	1,830,000	7,930,000
2010 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2011 年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：免疫学

キーワード：免疫記憶

1. 研究開始当初の背景

CD4 陽性のヘルパーT 細胞は、産生するサイトカインによって少なくとも 3 種類、Th1 細胞 (IFN- γ 産生)、Th2 細胞 (IL-4, IL-5, IL-13 産生)、Th17 細胞 (IL-17 産生) に分類される。これらの細胞は、それぞれ違った局面で免疫反応を制御している。さらに、

Th1/Th2/Th17 細胞のバランスは、免疫が関与する様々な病態と密接な関係を持っている。Th2 優位の状態は I 型アレルギーの発症と関係があり、臓器特異的自己免疫疾患では Th1 や Th17 優位の状態になる。アレルギーや自己免疫疾患は多因子疾患であり、遺伝的要因と環境要因が作用することで特定のク

ロマチン領域にエピジェネティックな変化果、複数の遺伝子発現変動が起こることで発症すると考えられる。申請者は、これまでに、Th2 サイトカイン遺伝子座におけるヒストンのアセチル化、メチル化などを指標に、Th2 細胞分化を担うクロマチンリモデリングの分子機構に関する研究を行い、転写記憶(transcriptional memory)に関与すると言われるポリコームやトライソラックス遺伝子産物の作用機序や Th2 細胞分化のマスター転写因子である GATA3 を含むクロマチンリモデリング複合体の機能解析を行ってきた。ここ 1-2 年は、メモリーTh2 細胞形成の分子機構とアレルギー性疾患病態形成における役割について解析を行い、免疫記憶の維持の分子機構の一端をクロマチン構造の変換・維持の観点から明らかにしてきた。

2. 研究の目的

本申請研究では次の 3 点の研究を行う。

(1) ポリコームやトライソラックス群遺伝子産物による GATA3 遺伝子発現制御機構の解明

ポリコームやトライソラックス分子は、ショウジョウバエの研究から、複合体を形成しホメオボックス遺伝子の発現維持を行っていることがわかった分子で、ほ乳類では脊椎の発生を調節していることで知られている。我々は、トライソラックス群に属するヒストンメチル基転移酵素 MLL (H3-K4 メチル化特異的) の GATA3 遺伝子座へのリクルートが、メモリーTh2 細胞の機能維持に必須であることを報告した (Yamashita et al. *Immunity* 2006)。最近、GATA3 を発現しないナイーブ T 細胞や Th1 細胞では、MLL 結合領域にポリコーム複合体が結合していることが分かった。ポリコームとトライソラックスのどちらかが結合しているかによって、GATA3 の様な細胞分化の系列決定に重要な転写因子の発現が調節されていることが示唆された。そこで、まず、(i) ナーブ T 細胞→エフェクターTh2 細胞→メモリーTh2 細胞の各段階において、MLL とポリコーム複合体の結合交換反応を担う分子機構を解明する。また、(ii) メモリーTh2 細胞に特異的に検出されることが分かった MLL 複合体のコンポーネント (Men1, Pol II など) に関して、特に Th2 細胞機能の維持・調節機能に注目して解析を行う。MLL 複合体の会合分子に関してプロテオーム解析法を用いて網羅的な同定実験を行う。

(2) ポリコームやトライソラックス群遺伝子産物によるメモリーTh1/Th2 細胞の形成機構の解明

我々は、これまでにエフェクターTh1/Th2 細胞を同系のマウスに移入してメモリーTh1/Th2 細胞を分化させる「メモリーTh1/Th2 マウス」の実験系を樹立して、メモリーTh1/Th2 細胞の形成と機能維持に関する分子機構の解析を行ってきた (Yamashita et al. *Immunity* 2006, Kimuta et al. *J. Immunol.* 2007)。ポリコーム遺伝子欠損マウス (Bmi-1-KO, Mel-18-KO, Ring1-B-KO など) では、メモリー T 細胞の形成に大きな障害があることが分か

が誘導され、その結

った (Yamashita et al. *J. Exp. Med.* 2008)。この結果は、ポリコーム分子の存在がメモリーTh1/Th2 細胞の形成に必須であることを物語っている。機能的なメモリー T 細胞が形成されるには、生存 (survival)/細胞死アポトーシスからの回避、増殖 (proliferation)、Th1/Th2 機能の維持などのプロセスを経なければならない (Nakayama et al. *Curr. Opin. Immunol.* 2008)。本申請研究では、ポリコーム遺伝子欠損 T 細胞では、これらのどのプロセスに障害があり、メモリー T 細胞の形成ができないのか、その分子機構を明らかにする。Bmi-1-KO マウスを用いたこれまでの実験ではアポトーシス誘導分子 Noxa の抑制障害が示唆されている。

(3) 生体レベルでの解析：ポリコームとトライソラックスによるアレルギー反応・病態形成の制御、癌免疫形成の制御。メモリーTh1/Th2 細胞の形成、機能維持に重要な分子の遺伝子操作マウス (計画の頁に記載) を用いて、生体レベルでの解析を行う。特に、メモリーTh1 細胞、Th2 細胞依存的なマウス喘息気道炎症モデル (Yamashita et al. *Immunity* 2006, Nigo et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006) を利用して、アレルギー反応・病態形成における当該分子の役割を生体レベルで解析する。

3. 研究の方法

(1) ポリコームやトライソラックス群遺伝子産物による GATA3 遺伝子発現制御機構の解明

目的の (i) で記載した、ナイーブ T 細胞→エフェクターTh2 細胞→メモリーTh2 細胞の各段階において、MLL とポリコーム複合体の Th2 特異的な結合交換反応を担う分子機構を解明するために、まず、ナイーブ CD4⁺CD44^{low} 細胞 (CD4⁺CD44^{low})、in vitro で作成したエフェクターTh2 細胞、Th1 細胞 (コントロール)、メモリーTh2 マウスの生体内で形成されたメモリーTh2 細胞をフローサイトメトリーや磁気ビーズソーティング法で調製する。これらの方法は我々の研究室で常時利用している実験法である (Yamashita et al. *J. Biol. Chem.*, 2005, Yamashita et al. *Immunity* 2006, Kimuta et al. *J. Immunol.*, 2007)。抗 MLL 抗体、抗 Bmi-1 抗体、抗ヒストンアセチル化 (H3-K9) 抗体、抗ヒストンメチル化 (H3-K4) 抗体等を用いて、クロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析やクロマチン免疫沈降-DNA アレイ (ChIP-on-chip) 解析を行ない、GATA3 遺伝子座における細胞ステージ別のヒストン修飾と MLL と Bmi-1 の結合マップを作成する。これまでの実験で、GATA3 を発現しない Th1 細胞では Bmi-1 が、GATA3 を発する Th2 細胞では MLL が GATA3 遺伝子座と Th2 サイトカイン遺伝子座に結合していることが分かっている。Th2 細胞分化において重要性が示唆されている STAT6, STAT5, GATA3 (autoregulation) などの分子の関与については、それぞれのノックアウトマウスから、エフェクターTh2 細胞、Th1 細胞、メモリーTh2 細胞を調製し、MLL と

Bmi-1の結合パターンの変化を調べることで、これらの分子の関与を明らかにする。次に、これまでの我々のメモリーTh2細胞の解析で同定された MLL 複合体のコンポーネントとしての Men1 の機能を明らかにする。特に、Men1 に関しては、MLL と Pol II 分子の橋渡しをし、転写活性化部位に MLL 複合体をリクルートする機能が示唆されている。Men1 ノックアウトマウスはすでに入手、戻し交配済みである。Th1/Th2/Th17 細胞の分化、メモリーTh1/Th2 細胞の形成、GATA3 の発現、メモリーTh2 細胞の機能維持に注目して機能解析を行う。

(2) ポリコームやトライソラックス群遺伝子産物によるメモリーTh1/Th2 細胞の形成機構の解明

ポリコーム遺伝子欠損マウス (Bmi-1-KO, Mel-18-KO, Ring1-B-KO など) では、メモリーT細胞の形成に大きな障害があることが分かった (Yamashita et al. *J. Exp. Med.*, 2008)。その分子機構を解明するために、この作用に重要なターゲット遺伝子を同定する分子生物学的な実験をポリコーム遺伝子欠損マウスの T 細胞を用いておこなう。増殖能 (proliferation) に関しては、エフェクターTh2細胞を同系マウスに移入して 3-7 日後 (コントロールフェーズに相当)、30 日後 (定常状態のメモリーフェーズ) に BrdU をマウスに投与してそれぞれの段階での細胞増殖能を解析する。また、エフェクターTh2細胞を CFSE でラベルして同系マウスに戻し、細胞の分裂状態を 1 週間程度経時的に解析する。生存能 (survival)、細胞死 (アポトーシス) に関しては、ポリコーム遺伝子欠損マウスの T 細胞の種々の遺伝子発現に注目してターゲット遺伝子を同定する。また、組織切片での TUNEL 解析、ex vivo での PI/AnnexinV の染色像の解析も行う。増殖に関しては、Ink4a/Arf など、生存に関しては Bcl2, Bclx など、アポトーシスに関しては、BH3-only protein の Bim, Noxa, Puma, Bak, Bax, さらに Fas, FasL など、ポリコーム分子による制御が示唆されている分子群に注目し、それらの発現を mRNA レベルや蛋白レベルで real time PCR や細胞内染色法とフローサイトメトリーを用いて詳細に解析する。Bmi-1-KO マウスを用いた実験では Noxa の関与が示唆されている (Yamashita et al. *J. Exp. Med.*, 2008)。これらの一連の実験によって、ポリコーム分子の下流でメモリーT細胞の生存維持機構を担っている機能的ターゲット分子を同定する。

(3) 生体レベルでの解析、ポリコームとトライソラックスによるアレルギー反応・病態形成の制御

メモリーTh1/Th2 細胞の形成や機能維持に関して大きな役割を持つことが分かった分子に関して、この研究で新たに樹立・解析する遺伝子操作マウスを用いて、生体レベルでの解析を行う。特に、我々が樹立したメモリーTh1細胞、Th2細胞依存的なマウス喘息気道炎症モデルを利用し、アレルギー反応・病態形成における分子制御機構を生体レベル

で解明する。予定の遺伝子操作マウスとしては、Men1-KO マウス、GATA3 conditional KO マウスがあり、平成 21~22 年度にすでに生体レベルでの解析ができる状態になっている。

4. 研究成果

(1) ポリコームやトライソラックス群遺伝子産物による GATA3 遺伝子発現制御機構の解明

ナイーブT細胞→エフェクターTh2細胞→メモリーTh2細胞の各段階において、MLL とポリコーム複合体の Th2 特異的な結合交換反応を担う分子機構を解明するための実験を行った。抗 MLL 抗体、抗 Bmi-1 抗体、抗ヒストンアセチル化(H3-K9)抗体、抗ヒストンメチル化(H3-K4)抗体等を用いて、クロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析やクロマチン免疫沈降-DNA アレイ (ChIP-on-chip) 解析を行ない、GATA3 遺伝子座における細胞ステージ別のヒストン修飾と MLL と Bmi-1 の結合マップを作成した。STAT6 依存性の MLL 結合領域、STAT6 結合領域、転写を正に制御する HAT complex の STAT6 結合領域への結合が分かった。GATA3 遺伝子座における、細胞分化ステージ特異的な MLL と Bmi-1 の結合マップおよび STAT6 などによる制御機構を明らかにし、論文発表を行った (Onodera et al. *J. Exp. Med.*, 2010)。また、GATA3 の ChIP-Seq 解析を Th1/Th2 細胞で行い、多くの GATA3 と STAT6 の両方が関与する Th2 特異的遺伝子を同定した (Horiuchi et al. *J. Immunol.*, 2011)。さらに、ES細胞、B細胞、ナイーブT細胞、エフェクターTh2細胞の各段階における、Menin とポリコームの Bmi1 複合体の結合遺伝子の網羅的同定に関する実験を ChIP-sequence 法を用いて解析した。ポリコームやトライソラックス分子による遺伝子発現調節に関して、GATA3 遺伝子座を始め多くの遺伝子領域で数多くの知見を得た (論文作成中)。GATA3 複合体の新規会合分子 ChD4 がプロテオーム解析で同定され、その分子をレトロウイルスやレンチウイルスで T細胞に強制発現させ、Th1/Th2 分化、メモリーTh1/Th2 細胞の in vivo での形成と機能解析を行い、新規分子の機能を細胞レベルで解析した。ノックアウトマウスを作成中である。

(2) ポリコームやトライソラックス群遺伝子産物によるメモリーTh1/Th2 細胞の形成機構の解明

次に、これまでの我々のメモリーTh2細胞の解析で同定された MLL 複合体のコンポーネントとしての Men1 の機能を明らかにするための実験を行った。特に、Men1 に関しては、MLL と Pol II 分子の橋渡しをし、転写活性化部位に MLL 複合体をリクルートする機能が示唆されている。Men1 ノックアウトマウスを用いて解析しメモリーTh1/Th2細胞の形成、GATA3 の発現、メモリーTh2細胞の機能維持に注目して機能解析を行った。さらに、メモリーTh2細胞特異的に発現する MLL 複合体の新規の会合分子を網羅的にプロテオームの手法を用いて解析した。Th17細胞の

分化自体にも **Men1** が必要な事が分かり、この分化制御機構をまず解析し、**Th17** 細胞分化に **Men1** が必要なことが分かった。また、ポリコームの **EZH2** ノックアウトマウスを樹立し、解析をはじめた。**Th1/Th2** 細胞の形成や機能維持に関する研究を行った。**EZH2** ノックアウトマウスでは、まず、**Th1/Th2** 細胞とも形成が上昇していることが分かった。**(3) 生体レベルでの解析、ポリコームとトライソラックスによるアレルギー反応・病態形成の制御**

ポリコームの **EZH2** ノックアウトマウスを樹立し、メモリー**Th1/Th2** 細胞の形成や機能維持に関する研究を行った。**EZH2** ノックアウトマウスでは、**Th2** 細胞の分化が亢進しており、マウス喘息気道炎症モデルを利用し、アレルギー反応・病態形成における分子制御機構を生体レベルで解明するための実験を行ったところ、炎症が増悪した。メモリー**Th1/Th2** 細胞の形成や機能維持に関しても大きな役割を持つことが分かった。遺伝子操作マウスとしては、**Men1-KO** マウス、**EZH2 conditional KO** マウスなどを用いた。**Men1-KO** マウスでは、**Th17** 誘導性の炎症は抑制されていた。

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 32 件) **全て査読有**

- Satoh, M., Andoh, Y., Clingan, S. C., Ogura, H., Fujii, S., Nakayama, T., Taniguchi, M., Hirata, N., Ishimori, N., Tsutsui, H., Onoe, K. and Iwabuchi, K.: Type II NKT cells stimulate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation, steatohepatitis and insulin resistance. *PLoS ONE* 7(2):e30568 (2012). 10.1371/journal.pone.0030568
- Yamashita, J., Iwamura, C., Mitsumori, K., Hosokawa, H., Sasaki, T., Takahashi, M., Tanaka, H., Kaneko, K., Hanazawa, A., Watanabe, Y., Shinoda, K., Tumes, D., Motohashi, S. and Nakayama, T.: *Murine Schnurri-2* controls Natural Killer cell function and lymphoma development. *Leuk. Lymphoma* 53(3):479-86 (2012). 10.3109/10428194.2011.625099
- Kidoya, H., Kunii, N., Naito, H., Muramatsu, T., Okamoto, Y., Nakayama, T. and Takakura, N.: The apelin/APJ system induces maturation of the tumor vasculature and improves the efficiency of immune therapy. *Oncogene* in press (2011). 10.1038/onc.2011.489
- Tsuyusaki, J., Kuroda, F., Kasuya, Y., Ishizaki, I., Yamauchi, K., Sugimoto, H., Kono, T., Iwamura, C., Nakayama, T. and Tatsumi, K.: Cigarette smoke-induced pulmonary inflammation is attenuated in CD69-deficient mice. *J. Recept. Sig. Transduct. Res.* 31:434-439 (2011). 10.3109/10799893.2011.631929
- Endo, Y., Iwamura, C., Kuwahara, M., Suzuki, A., Sugaya, K., Tumes, J. D., Tokoyoda, K., Hosokawa, H., Yamashita, M. and Nakayama, T.: Eomesodermin controls interleukin-5 production in memory T helper 2 cells through inhibition of activity of the transcription factor GATA3. *Immunity* 35:733-745 (2011). 10.1016/j.immuni.2011.08.017
- Takahashi, K., Hirose, K., Kawashima, S., Niwa, Y., Wakashin, H., Iwata, A., Tokoyoda, K., Renauld, J.-C., Iwamoto, I., Nakayama, T. and Nakajima, H.: IL-22 attenuates IL-25 production by lung epithelial cells and inhibits antigen-induced eosinophilic airway inflammation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 128:1067-1076 (2011). 10.1016/j.jaci.2011.06.018
- Yamauchi, K., Kasuya, Y., Kuroda, F., Tanaka, K., Tsuyusaki, J., Ishizaki, S., Matsunaga, H., Iwamura, C., Nakayama, T. and Tatsumi, K.: Attenuation of lung inflammation and fibrosis in CD69-deficient mice after intratracheal bleomycin. *Respir. Res.* 12:131 (2011). 10.1186/1465-9921-12-131
- Exley, M. A., and Nakayama, T.: NKT-cell-based immunotherapies in clinical trials. *Clin. Immunol.* 140:117-118 (2011). 10.1016/j.clim.2011.04.015
- Motohashi, S., Okamoto, Y., Yoshino, I. and Nakayama, T.: Anti-tumor immune responses induced by iNKT cell-based immunotherapy for lung cancer and head and neck cancer. *Clin. Immunol.* 140:167-176 (2011). 10.1016/j.clim.2011.01.009
- Kitajima, M., Ito, T., Tumes, J. D., Endo, Y., Onodera, A., Hashimoto, K., Motohashi, S., Yamashita, M., Nishimura, T., Ziegler, F. S. and Nakayama, T.: Memory type 2 helper T cells induce long-lasting anti-tumor immunity by activating natural killer cells. *Cancer Res.* 71:4790-4798 (2011). 10.1158/0008-5472.CAN-10-1572
- Kitajima, M., Lee, H.-C., Nakayama, T. and Ziegler, S. F.: TSLP enhances the function of helper type2 cells. *Eur. J. Immunol.* 41:1862-1870 (2011). 10.1002/eji.201041195
- Hirasaki, Y., Iwamura, C., Yamashita, M., Ito, T., Kitajima, M., Shinoda, K., Namiki, T., Terasawa, K. and Nakayama, T.: Repressor of GATA negatively regulates murine contact hypersensitivity through the inhibition of type-2 allergic responses. *Clin. Immunol.* 139:267-276 (2011). 10.1016/j.clim.2011.02.009
- Horiuchi, S., Onodera, A., Hosokawa, H., Watanabe, Y., Tanaka, T., Sugano, S., Suzuki, Y. and Nakayama, T.: Genome-wide analysis reveals unique regulation of transcription of Th2-specific genes by GATA3. *J. Immunol.* 186:6378-6389 (2011). 10.4049/jimmunol.1100179
- Fujimura, T., Yonekura, S., Horiguchi, S., Taniguchi, Y., Saito, A., Yasueda, H., Inamine, A., Nakayama, T., Takemori, T., Taniguchi, M., Sakaguchi, M. and Okamoto, Y.: Increase

- of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring or prognostic biomarkers in 2-year sublingual immunotherapy (SLIT) for Japanese cedar pollinosis. *Clin. Immunol.* 139:65-74 (2011). 10.1016/j.clim.2010.12.022
15. Yamasaki, K., Horiguchi, S., Kurosaki, M., Kunii, N., Nagato, K., Hanaoka, H., Shimizu, N., Ueno, N., Yamamoto, S., Taniguchi, M., Motohashi, S., Nakayama, T. and Okamoto, Y.: Induction of NKT cell-specific immune responses in cancer tissues after NKT cell-targeted adoptive immunotherapy. *Clin. Immunol.* 138:255-265 (2011). 10.1016/j.clim.2010.11.014 2011.Mar.
 16. Yamashita, J., Iwamura, C., Sasaki, T., Mitsumori, K., Ohshima, K., Hada, K., Hara, N., Takahashi, M., Kaneshiro, Y., Tanaka, H., Kaneko, K. and Nakayama, T.: Apolipoprotein A-II suppressed concanavalin A-induced hepatitis via the inhibition of CD4 T cell function. *J. Immunol.* 186:3410-3420 (2011). 10.4049/jimmunol.1002924
 17. Kurosaki, M., Horiguchi, S., Yamasaki, K., Uchida, Y., Motohashi, S., Nakayama, T., Sugimoto, A. and Okamoto, Y.: Migration and immunological reaction after the administration of α GalCer-pulsed antigen-presenting cells into the submucosa of patients with head and neck cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 60:207-215 (2011). 10.1007/s00262-010-0932-z
 18. Aoyagi, T., Yamamoto, N., Hatta, M., Tanno, D., Miyazato, A., Ishii, K., Suzuki, K., Nakayama, T., Taniguchi, M., Kunishima, H., Hirakata, Y., Kaku, M. and Kawakami, K.: Activation of pulmonary invariant NKT cells leads to exacerbation of acute lung injury caused by LPS through local production of IFN- γ and TNF- α by Gr-1⁺ monocytes. *Int. Immunol.* 23:97-108 (2011). 10.1093/intimm/dxq460 2011
 19. Iwamura, C. and Nakayama, T.: Role of NKT cells in allergic asthma. *Curr. Opin. Immunol.* 22:807-81(2010). 10.1016/j.coi.2010.10.008
 20. Onodera, A., Yamashita, M., Endo, Y., Kuwahara, M., Tofukuji, S., Hosokawa, H., Kanai, A., Suzuki, Y. and Nakayama, T.: STAT6-mediated displacement of polycomb by trithorax complex establishes long-term maintenance of *GATA3* expression in T helper type 2 cells. *J. Exp. Med.* 207:2493-2506 (2010). 10.1084/jem.20100760
 21. Nakayama, T. and Yamashita, M.: The TCR-mediated signaling pathways that control the direction of helper T cell differentiation. *Semin. Immunol.* 22:303-309 (2010). 10.1016/j.smim.2010.04.010
 22. Suzuki, S., Tanaka, T., Poyurovsky, V. M., Nagano, H., Mayama, T., Ohkubo, S., Lokshin, M., Hosokawa, H., Nakayama, T., Suzuki, Y., Sugano, S., Sato, E., Nagao, T., Yokote, K., Tatsuno, I. and Prives, C.: Phosphate-activated glutaminase (GLS2), a p53-inducible regulator of glutamine metabolism and reactive oxygen species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:7461-7466 (2010). 10.1073/pnas.1002459107
 23. Suzuki, A., Iwamura, C., Shinoda, K., Tumes, J. D., Kimura, Y. M., Hosokawa, H., Endo, Y., Horiuchi, S., Tokoyoda, K., Koseki, H., Yamashita, M. and Nakayama, T.: Polycomb group gene product Ring1B regulates Th2-driven airway inflammation through the inhibition of Bim-mediated apoptosis of effector Th2 cells in the lung. *J. Immunol.* 184:4510-4520 (2010). 10.4049/jimmunol.0903426
 24. Fujimura, T., Yonekura, S., Taniguchi, Y., Horiguchi, S., Saito, A., Yasueda, H., Nakayama, T., Takemori, T., Taniguchi, M., Sakaguchi, M. and Okamoto, Y.: The induced regulatory T-cell level, defined as the proportion of IL10⁺Foxp3⁺ cells among CD25⁺CD4⁺ leukocytes, is an available therapeutic biomarker for sublingual immunotherapy: A preliminary report. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 153:378-387 (2010). 10.1159/000316349
 25. Hasegawa, A., Hayashi, K., Kishimoto, H., Yang, M., Tofukuji, S., Suzuki, K., Nakajima, H., Hoffman, R. M., Shirai, M. and Nakayama, T.: Color-coded real-time cellular imaging of T lymphocyte accumulation and focus formation in mouse asthma model. *J Allergy Clin. Immunol.* 125:461-468.e6 (2010). 10.1016/j.jaci.2009.09.016
 26. Tokoyoda, K., Hauser A. E., Nakayama, T. and Radbruch, A.: Organization of immunological memory by bone marrow stroma. *Nat. Rev. Immunol.* 10:193-200 (2010). 10.1038/nri2727
 27. Iwamura, C., Shinoda, K., Yoshimura, M., Watanabe, Y., Obata, A. and Nakayama, T.: Naringenin chalcone suppresses allergic asthma by inhibiting the type-2 function of CD4 T cells. *Allergy International* 59:67-73 (2010). 10.2332/allergolint.09-OA-0118
 28. Miki, H. T., Hasegawa, A., Iwamura, C., Shinoda, K., Tofukuji, S., Watanabe, Y., Hosokawa, H., Motohashi, S., Hashimoto, K., Shirai, M., Yamashita, M. and Nakayama, T.: CD69 controls the pathogenesis of allergic airway inflammation. *J. Immunol.* 183:8203-8215 (2009). 10.4049/jimmunol.0900646
 29. Kohu, K., Ohmori, H., Wong, W. F., Onda, D., Wakoh, T., Kon, S., Yamashita, M., Nakayama, T., Kubo, M. and Satake, M.: The Runx3 transcription factor augments T_H1 and down-modulates T_H2 phenotypes by interacting with and attenuating GATA3. *J. Immunol.* 183:7817-7824 (2009). 10.4049/jimmunol.0802527
 30. Kitajima, M., Iwamura, C., Miki, H. T., Shinoda, K., Endo, Y., Watanabe, Y.,

- Shinnakasu, R., Hosokawa, H., Hashimoto, K., Motohashi, S., Koseki, H., Ohara, O., Yamashita, M. and Nakayama, T.: Enhanced Th2 cell differentiation and allergen-induced airway inflammation in *Zfp35*-deficient mice. *J. Immunol.* 183:5388-5396 (2009). 10.4049/jimmunol.0804155
31. Kunii, N., Horiguchi, S., Motohashi, S., Yamamoto, H., Ueno, N., Yamamoto, S., Sakurai, D., Taniguchi, M., Nakayama, T. and Okamoto, Y.: Combination therapy of *in vitro*-expanded natural killer T cells and α -galactosylceramide-pulsed antigen-presenting cells in patients with recurrent head and neck carcinoma. *Cancer Sci.* 100:1092-1098 (2009). 10.1111/j.1349-7006.2009.01135.x
32. Nakayama, T. and Yamashita, M.: Critical role of the Polycomb and Trithorax complexes in the maintenance of CD4 T cell memory. *Semin. Immunol.* 21:78-83 (2009). 10.1016/j.smim.2009.02.001

[学会発表] (計 10 件)

1. Onodera, A., Yamashita, M., Endo, Y., Kuwahara, M., Tofukuji, S., Hosokawa, H., Horiuchi, S., Watanabe, Y. and Nakayama, T.: STAT6 によって誘導されるポリコムとトライソラックスの置換反応 / STAT6 - mediated displacement of Polycomb by Trithorax complex establishes long-term maintenance of GATA3 expression in Th2 cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会 2011 年 11 月 27 日、幕張
2. Onodera, A., Horiuchi, S., Hosokawa, H., Watanabe, Y., Suzuki, Y. and Nakayama, T.: Genome-wide analysis reveals unique regulation of transcription of Th2-specific genes by GATA3. NCI Symposium on Chromosome Structure and Function, 2011 Nov 1, Bethesda, MD
3. Nakayama, T. and Iwamura, C.: NKT cell-mediated regulation of antigen-specific memory Th2 cell function. 6th International Symposium on CD1 and NKT Cells, 2011 Sep 25, Chicago, USA
4. Nakayama, T.: Epigenetic regulation of GATA3 expression and its target genes in Th2 cells. 45th Joint Working Conference on Immunology and Viral Diseases, 2011 Jun 20, CA, USA
5. Nakayama, T. and Onodera, A.: Regulation of memory Th2 cell function and allergic airway inflammation via polycomb and trithorax molecules. 30th Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 2011 June 15, Istanbul, Turkey
6. 堀内周、小野寺淳、細川裕之、渡邊友紀子、鈴木穰、中山俊憲 GATA3 ChIP-sequence 解析を用いた Th2 特異的遺伝子の転写調節機構の解明, 第 5 回日本エピジェネティクス研究会 2011 年 5 月 19 日、熊本
7. Endo, Y., Onodera, A. and Nakayama, T.:

- Generation and maintenance of memory Th1/Th2 cell identity. 2010 ASBMB, 2010 Oct 2, Tahoe City, USA
8. Onodera, A., Endo, Y. and Nakayama, T.: STAT6-mediated displacement of Polycomb by Trithorax complex establishes long-term maintenance of GATA3 expression in Th2 cells. 2010 ASBMB, 2010 Oct 1, Tahoe City, USA
 9. Nakayama, T.: CD4 T cell memory controlled by Polycomb and Trithorax molecules. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity, 2010 Sep 10 9/7-10/2010, Awaji, JAPAN(招待講演)
 10. 中山俊憲 免疫記憶、ポリコムとトライソラックスによる制御 第 4 回日本エピジェネティクス研究会 2010 年 5 月 29 日、米子

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

1. 名称:

INHIBITION OF CD69 FOR TREATMENT OF INFRAMMATORY CONDITIONS

発明者: 中山俊憲(国立大学法人千葉大学)、長谷川明洋(国立大学法人山口大学)、白井睦訓(国立大学法人山口大学)

権利者: 国立大学法人千葉大学・国立大学法人山口大学

種類: 米国レギュラー出願

番号: US12/945153 号

出願年月日: 2010 年 11 月 12 日

国内外の別: 国外

2. 名称: 関節リウマチに対する抗 IL-6 受容体抗体療法の有効性の予測方法

発明者: 中島裕史 (国立大学法人千葉大学大学院)、池田 啓 (国立大学法人千葉大学大学院)、加々美新一郎 (国立大学法人千葉大学大学院)、鈴木快枝 (国立大学法人千葉大学大学院)、中山俊憲 (国立大学法人千葉大学大学院)、岩本逸夫*、古田俊介*、小原 收 (財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所)

野中 謙*、山下政克(財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所)、的場 亮*

権利者: 国立大学法人千葉大学、財団法人かずさディー・エヌ・エー研究所

種類: 日本特願

番号: 2011-156921 号

出願年月日: 2011 年 7 月 15 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中山 俊憲 (NAKAYAMA Toshinori)

千葉大学・大学院医学研究医・教授

研究者番号: 50237468