

肥満細胞株RBL-2H3のアレルギー関連遺伝子発現に及ぼす栄養因子の影響

松村 愛子, 岡野 真知子, 妻木 陽子, 坂井 堅太郎

(2011年11月11日受理)

Effect of Nutritional Factors on Expression of Allergy Related Genes in Mast Cell Line RBL-2H3

Aiko MATSUMURA, Machiko OKANO, Yoko TSUMAKI and Kentaro SAKAI

Abstract

Mast cells are central effector that cause immediate hypersensitive responses to onset of allergy syndromes through the IgE mediated release of a variety of chemical materials.

Histamine is synthesized in mast cells and basophils by the action of histidine decarboxylase (HDC) on L-histidine, the major chemical mediator that implicated in mechanism of allergic reactions, such as vasodilation, bronchial smooth muscle contraction and mucus secretion. Thus, HDC activity level in mast cells has a possibility to play a crucial role in histamine signaling and capable of production of histamine. Moreover, allergic disease are considered as imbalance in Th1 and Th2 cytokines, especially in IL-4 versus IL-13, which can drive the differentiation of naïve T helper cells into Th2 cells and facilitate allergic reactions. Therefore, search for effective components that modulate histamine release and Th2 cytokine production from mast cells are indicated for immuno therapeutic approaches to allergy disease.

Recently, several nutritional factors are known as key regulators of immune cell functions, which control the development of allergic reaction. To elucidate the role of essential amino acids and retinoic acids in mast cells, the effects of histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, all-*trans* retinoic acid and 9-*cis* retinoic acid on cell proliferation and expression of allergy-related genes in the rat basophil leukemia cell line, which is a model system for the analysis of IgE receptor-mediated histamine release, were studied.

Reverse transcription polymerase chain reaction analysis revealed that HDC mRNA expression was increased in the presence of histidine, valine and all-*trans* retinoic acid. IL-4 mRNA expression was also increased in the presence of several essential amino acids. In contrast, mRNA expression of IL-13, high-affinity IgE receptor and inflammatory cytokine TNF- α were significantly suppressed by the almost of amino acid and retinoic acid.

From these results, the expression of allergy related genes is influenced by essential amino acids and retinoic acid. Histidine, in particular, was up-regulated activation on mast cells.

Key words: allergy アレルギー, essential amino acid 必須アミノ酸, retinoic acid ビタミンA, histidine decarboxylase (HDC) ヒスチジン脱炭酸酵素

I 緒 言

食物アレルギーとは、原因食物を摂取した後に免疫学的機序を介して、生体にとって不利な症状が惹起される現象と定義されている¹⁾。アレルギー症状の誘発には、リンパ球であるT細胞やB細胞、アレルギー症状を誘発する化学伝達物質であるヒスタミンやプロスタグランジンなどを含有している肥満細胞、それらの細胞から産生されるサイトカインなどが複雑に関わりあっている^{2,3)}。なかでも、肥満細胞は細胞内にヒスチジンからヒスタミンを合成する酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素 (L-histidine decarboxylase: HDC) を有し、細胞表面にIgE抗体の受容体であるFcεRIを発現している。また、アレルギー症状の増悪に関わるIL-4, IL-13, TNF-αなどのサイトカインを有していることから、アレルギー反応において重要な役割を担っている。

本研究では、食物アレルギーの有病率の増加と食生活の変化に関係性があると推察した。わが国では、第二次世界大戦後から様々な食品を摂取する機会が増加し、栄養素の摂取量が変化している。なかでも、たんぱく質においては、1978年を境に摂取源が植物性食品から動物性食品へと逆転している。たんぱく質はアミノ酸がペプチド結合することで構成され、ヒスチジン (His)、イソロイシン (Ile)、ロイシン (Leu)、リシン (Lys)、メチオニン (Met)、フェニルアラニン (Phe)、トレオニン (Thr)、トリプトファン (Trp)、バリン (Val) の9種類は、ヒトの体内で合成することができないため食品から摂取しなければならない必須アミノ酸と定義されている⁴⁾。従って、近年の日本人の食生活においてたんぱく質源が変化した影響を受け、これら必須アミノ酸の摂取量にも変化が生じたと考えられる。また、免疫機能を調節する因子として、食品中の様々な栄養素の作用が注目されている。脂溶性ビタミンであるビタミンAは、食品から摂取されると生体内で活性型のレチノイン酸に変換され種々の生理機能を発揮する。レチノイン酸には、all-trans レチノイン酸と9-cis レチノイン酸の異性体があり、細胞内の核内受容体を介して遺伝子発現を調節することが知られており、特にT細胞においては、アレルギー症状を悪化させることが報告されている⁵⁾。

そこで本研究では、必須アミノ酸とレチノイン酸に着目し、これらの栄養因子が肥満細胞に及ぼす影響について検討を行った。研究では、肥満細胞培養株として、ラット好塩基球性白血球細胞 (rat basophil leukemia: RBL-2H3) を用い、アレルギー関連遺伝子としてHDC, FcεRI α, IL-4, IL-13およびTNF-αの発現を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法 (reverse transcription-polymerase chain reaction: RT-PCR) により解析した。

Ⅱ 実験方法

1) 細胞培養

RBL-2H3は10%ウシ胎仔血清(EQUITECH-BIO社), 2 mM L-Glutamin (Sigma社), Antibiotic-Antimycotic Mixed Stock solution (ナカライテスク社)を添加したMinimum Essential Medium Eagle (Sigma社)を細胞培養培地(以下, 培地)として, CO₂ インキュベーター内にて, 37℃, 5%CO₂ 環境下で培養した。培地に添加する各必須アミノ酸溶液は, 添加後の終濃度が元来培地に含まれている濃度に対して2.5, 5または10倍になるよう調整し, 各必須アミノ酸添加後の終濃度は, Hisで0.5 mM, 1 mM, 2 mM, Ileで1 mM, 2 mM, Leuで1 mM, 2 mM, Lysで1 mM, 2 mM, Metで0.5 mM, 1 mM, Pheで0.5 mM, 1 mM, Thrで2 mM, 4 mM, Trpで0.25 mM, 0.5 mM, Valで2 mM, 4 mMとした。また, レチノイン酸溶液は, all-*trans* レチノイン酸と9-*cis* レチノイン酸の終濃度を10, 100 nMとした。なお, 各必須アミノ酸溶液およびレチノイン酸溶液を培地に添加した場合の, 培地のpHの変化については, pHメーター(HORIBA社)を用いて測定した。

2) MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt) アッセイ

RBL-2H3を 1×10^6 cells/mlに調整し, 96穴マルチウェルプレートの各ウェルに100 μ lずつ加え, 各必須アミノ酸溶液とレチノイン酸溶液を10 μ l添加し, 37℃, 5% CO₂ のインキュベーターで24時間培養した。続いて, 各ウェルに, CellTiter 96® AQueous One Solution Proliferation Assay (Promega社)を20 μ lずつ添加し, CO₂ インキュベーターにて4時間培養した。その後, イムノミニ NJ-2300 (システムインスツルメンツ社)を用い490nmの吸光度を測定した。培地に各必須アミノ酸やレチノイン酸を添加してない細胞をNon Treatment (以下, NT)とし, NTの細胞増殖率100%に対して比較を行った。

3) RT-PCR

1×10^6 cells/mlのRBL-2H3を10cm細胞培養用シャーレに15 ml播種し, 各必須アミノ酸溶液, レチノイン酸溶液を添加し24時間培養した。なお, 必須アミノ酸溶液, レチノイン酸溶液の対照として, 組織培養水またはメタノールを添加したものをNTとした。

RNAiso Plus (タカラバイオ株式会社)を用いたRNAの抽出後, 2.5 μ gのRNAよりcDNAの合成を行い, GoTaq®Green Master MIX (promega社)と標的とする遺伝子のPrimerからPCRによる遺伝子増幅を行った。各Primerの配列について表1に示す。PCR反

応は、95℃ 1分間：1サイクル，95℃ 1分，58℃ 1分間，72℃ 1分間：28～32サイクル，72℃ 5分間：1サイクルを条件として行い，1.5% アガロースゲルを用いた電気泳動の後，紫外線照射によって検出された遺伝子のバンドをイメージスキャナを用いて画像を取得し，画像解析ソフトのImageJ（NIH）にてバンドを数値化した。各遺伝子の発現は，内部標準遺伝子である GAPDH（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase）に対する比率を算出し，それぞれ NT の値を100% とした遺伝子発現量（%）を求めた。

表1 RT-PCRで用いた各mRNAのPrimer Sequence

mRNA		Primer Sequence
HDC	Sense	5-CTCCTTCACCTTTAACCCCTTCCAAG-3'
	Anti-sense	5-ATCCATTGTCGTTTCCAGACTGTC-3'
FcεRIα	Sense	5-ACCGTGGATTAGAATACTTACAGGAG-3'
	Anti-sense	5-CGTCAGCAGAAGATTGGAGCAG-3'
IL-4	Sense	5-CGGTATCCACGGATGTAACGAC-3'
	Anti-sense	5-CCTCTACAGAGTTTCCTCAGTTCAC-3'
IL-13	Sense	5-GTCCTGGCTCTCGCTTGC-3'
	Anti-sense	5-TCAATATCCTCTGGGTCTGTGG-3'
TNF-α	Sense	5-AGATGTGGAAGTGGCAGAGGAG-3'
	Anti-sense	5-TGGGCTACGGCTTGTTCAC-3'
GAPDH	Sense	5-GGTGATGCTGGTGTGAGTATG-3'
	Anti-sense	5-GTCTTCTGAGTGGCAGTGATGG-3'

4) 統計分析

MTS アッセイおよび RT-PCR は同様の実験方法で3回ずつ行い，それぞれの結果は平均値 ± 標準偏差で示した。また，各サンプル間の有意差検定は *t* 検定を用いて行った。

Ⅲ 結 果

1) 必須アミノ酸およびレチノイン酸添加における培地 pH および細胞増殖率の変化

各必須アミノ酸溶液およびレチノイン酸溶液を添加した培地の pH を表2に示す。通常の培地の pH は7.6であり，種々の濃度の必須アミノ酸溶液とレチノイン酸溶液を添加した場合においても pH に変化はみられなかった。

また，各必須アミノ酸およびレチノイン酸の細胞増殖率への影響を MTS アッセイにより検討した結果，必須アミノ酸および *all-trans* レチノイン酸を添加した場合の細胞増殖率は，NT に対して90%～114%と差異が認められなかった（図1）。一方，*9-cis* レチノイン酸を添加した場合の細胞増殖率は，NT に対して141%および142%となった（図2）。

表 2 各必須アミノ酸溶液およびレチノイン酸溶液添加後の培地 pH

アミノ酸溶液		pH	アミノ酸溶液		pH
NT		7.57	Met	0.5 mM	7.54
His	0.5 mM	7.51		1 mM	7.55
	1 mM	7.51	Phe	0.5 mM	7.56
	2 mM	7.54		1 mM	7.54
Ile	1 mM	7.56	Thr	2 mM	7.54
	2 mM	7.56		4 mM	7.56
Leu	1 mM	7.55	Trp	0.25 mM	7.54
	2 mM	7.56		0.5 mM	7.56
Lys・HCl	1 mM	7.51	Val	2 mM	7.56
	2 mM	7.53		4 mM	7.54

レチノイン酸溶液		pH
NT		7.57
all-trans レチノイン酸	10 nM	7.56
	100 nM	7.59
9-cis レチノイン酸	10 nM	7.58
	100 nM	7.57

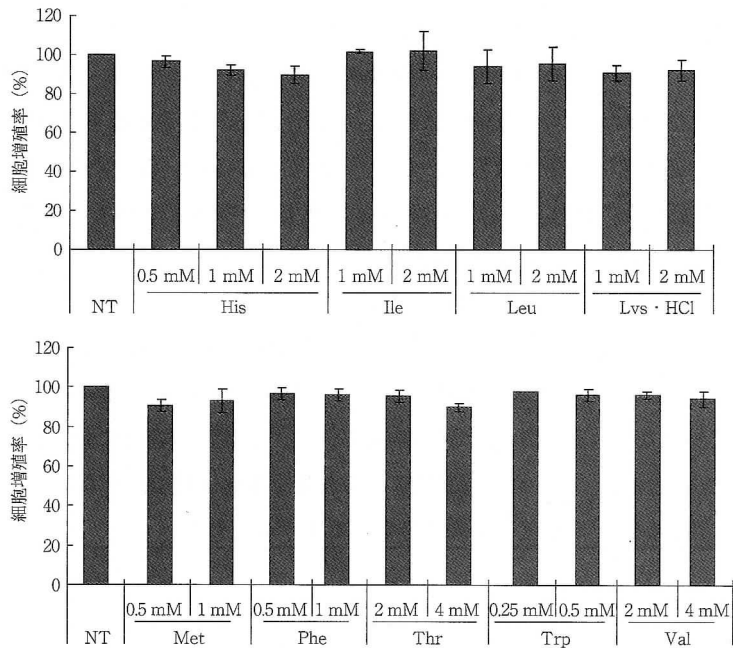


図 1 RBL-2H3 に対する各必須アミノ酸溶液の細胞増殖への影響

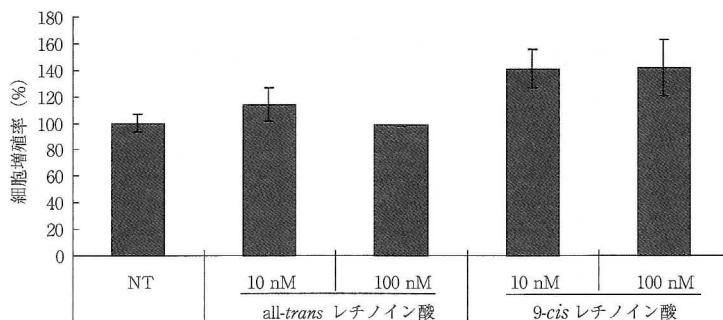


図2 RBL-2H3に対する各レチノイン酸溶液の細胞増殖への影響

2) 必須アミノ酸およびレチノイン酸添加によるアレルギー関連遺伝子の発現

必須アミノ酸添加によるアレルギー関連遺伝子 (HDC, $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$, IL-4, IL-13 および $\text{TNF-}\alpha$) の発現に及ぼす影響を, RT-PCR 法により解析した結果を図3および表3に示す。

HDC の発現は, His と Val で有意な上昇がみられた。一方で, その他の必須アミノ酸については低下がみられ, 特に Trp では著しい発現の低下が認められた。 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ の発現は, いずれの必須アミノ酸においても低下傾向にあり, His と Trp で有意な低下が認められた。IL-4 の発現は, 多くの必須アミノ酸で上昇がみられ, His, Leu, Lys, Phe で有意な上昇がみられたが, Val では有意な低下がみられた。IL-13 は, His 1mM を除くすべての必須アミノ酸で発現の低下がみられ, Val では全く検出されなかった。 $\text{TNF-}\alpha$ も, 多くの必須アミノ酸で発現の低下がみられ, Thr, Trp では全く検出されなかった。

一方, レチノイン酸を添加した場合, アレルギー関連遺伝子の発現は all-trans レチノイン酸と 9-cis レチノイン酸でそれぞれ逆の傾向を示した (表4)。 HDC の発現は, 10nM の all-trans レチノイン酸で有意な上昇がみられたが, 9-cis レチノイン酸では有意な低下がみられた。 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}\alpha$ と IL-4 の発現は各レチノイン酸添加による有意な変化は認められなかったが, IL-13 および $\text{TNF-}\alpha$ の発現は 9-cis レチノイン酸で有意な低下がみられた。

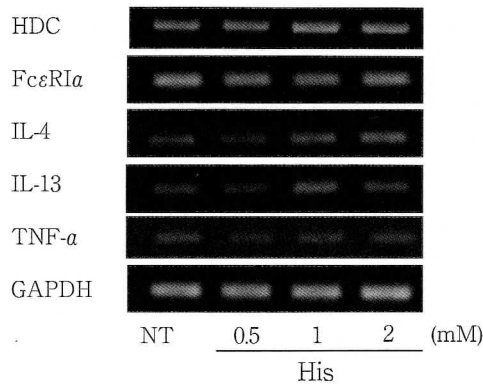


図3 RBL-2H3 への His 添加によるアレルギー関連遺伝子の mRNA 発現

表3 各必須アミノ酸溶液添加による RBL-2H3 のアレルギー関連遺伝子の発現強度

	His			Ile		Leu		Lys	
	0.5 mM	1 mM	2 mM	1 mM	2 mM	1 mM	2 mM	1 mM	2 mM
HDC	111	154 (*)	106	85	72 (*)	52	84 (*)	74	58 (*)
FcεRIα	77 (*)	71	67 (**)	101	105	58 (*)	77	80	83
IL-4	84	137	174 (**)	111	149	125	144 (*)	150 (**)	116 (*)
IL-13	83 (*)	164 (*)	95	66 (*)	55	65 (*)	61 (*)	61	58 (*)
TNF-α	73 (**)	58	52	78	72	69	74	109	116

	Met		Phe		Thr		Trp		Val	
	0.5 mM	1 mM	0.5 mM	1 mM	2 mM	4 mM	0.25 mM	0.5 mM	2 mM	4 mM
HDC	91	73	56	48	48 (*)	54	66 (*)	66 (**)	134	351(*)
FcεRIα	92	86	76	77	95	92	65 (*)	66 (**)	81	89
IL-4	165	161	103	175 (*)	93	91	89	107	71 (*)	61
IL-13	64 (*)	65 (*)	28 (**)	28 (*)	63 (*)	54 (*)	53 (*)	58 (*)	×	×
TNF-α	60 (**)	73	68 (*)	63 (**)	×	×	×	×	116	80

NT=100 %
× : non detected
*P<0.05 (vs NT)
**P<0.01 (vs NT)

表4 各レチノイン酸溶液添加による RBL-2H3 のアレルギー関連遺伝子の発現強度

	all-trans レチノイン酸		9-cis レチノイン酸	
	10 nM	100 nM	10 nM	100 nM
HDC	165 (*)	100	94 (*)	114
FcεRIα	112	104	79	99
IL-4	100	81	94	84
IL-13	119	87	66 (*)	98
TNF-α	112	102	74 (**)	95

NT=100 %
 *P<0.05 (vs NT)
 **P<0.01 (vs NT)

IV 考 察

本研究において、RBL-2H3 のアレルギー関連遺伝子の発現は、栄養因子である必須アミノ酸やレチノイン酸によって増減することが示された。

アレルギー症状の誘発に関わるヒスタミンは、必須アミノ酸である His から HDC により合成される。HDC は、肥満細胞や好塩基球など特定の細胞に高発現しており、サイトゾルには 74kDa の分子種を、残存細胞成分には 74kDa と 53kDa の分子種をもつことから、RBL-2H3 は 2ヶ所に存在する HDC によって、ヒスタミンを合成することが可能であると推測される^{6,7)}。本研究では、HDC の mRNA 発現は、His と Val を添加した場合に有意に増強されることが示された。このことから、高 His 環境下では HDC 遺伝子発現増強に伴う HDC タンパク質やヒスタミン合成の増加が懸念される。また、Val は分岐鎖アミノ酸の一種であり、エネルギー源として筋肉で代謝されやすい必須アミノ酸であるが、本研究では HDC の mRNA の発現を最も増強したため、高濃度の Val はヒスタミンの合成を増強する可能性が示唆された。さらに、肥満細胞からのヒスタミンの遊離は、アレルゲンに対して産生された特異的 IgE 抗体と肥満細胞表面に発現している FcεRIα とが結合し、体内に侵入したアレルゲンと架橋反応を起こすことで行われる²⁾。従って、FcεRIα 遺伝子発現の抑制は IgE の結合を低下させ、細胞内に蓄積された化学伝達物質の脱顆粒を抑え、症状の軽減に繋がると推測される。本研究では各必須アミノ酸溶液の添加により、FcεRIα の遺伝子発現は低下する傾向がみられ、なかでも His, Leu, Trp の添加において有意な低下が確認された。しかし、His は HDC 遺伝子の発現を増強し、ヒスタミン合成を促すことでアレルギー症状を悪化させる可能性も示唆されている。このような、相反する影響が肥満細胞に及ぼされる場合、生体内にアレルゲンが侵入し細胞内のヒスタミンが放出される過程において、FcεRIα 遺伝子の発現抑制と HDC 遺伝子の発現増強がどのような作用を引き起こすかについて検討する必要がある。

肥満細胞が産生する IL-4 や IL-13 などのサイトカインは、Th0 細胞を Th2 細胞に分化させアレルギー症状を増悪させる。IL-4 は形質細胞に作用して IgE 産生を促し、また肥満細胞からの IL-4、IL-13、TNF- α の mRNA 発現を増強させることから、IL-4 産生増加に伴う形質細胞からの IgE 産生が、さらに肥満細胞の IL-4 産生を促進するという悪循環が引き起こされる可能性が考えられる⁸⁾。IL-4 の mRNA 発現は、His (1 mM, 2 mM のみ)、Ile, Leu, Lys, Met, Phe により発現が増強された。特に Leu や Lys は、食品中に多く含まれる必須アミノ酸であることから、日常的な食品の摂取が肥満細胞の IL-4 を増加させる可能性が推察される。一方、IL-13 の mRNA 発現は His 1 mM 以外で有意な低下が認められ、IL-4 の結果とは大きく異なっていた。IL-13 の作用は IL-4 と類似しているが、気管支の粘液産生には IL-4 ではなく IL-13 が関与していることから、各必須アミノ酸が IL-13 の mRNA 発現に特異的に働き粘液産生を抑制する可能性も考えられる⁹⁾。TNF- α は、局所の血管内皮細胞の透過性を高め、白血球を動員して炎症を引き起こす炎症性サイトカインである^{10,11)}。腫瘍細胞、血管内皮細胞、マクロファージ、好中球などを標的とし、腫瘍細胞のアポトーシス、マクロファージや好中球の活性化、IL-1 や IL-6 などの炎症性サイトカインの産生を亢進する¹²⁾。本研究では、Lys と Val 以外の必須アミノ酸で遺伝子発現の減少が確認されたことから、多くの必須アミノ酸で抗炎症作用を有する可能性が考えられる。

本研究では、単独の必須アミノ酸添加が細胞増殖率を低下することなく、アレルギー関連遺伝子の発現を変化させることを確認した。しかし、実際に食品から摂取するたんぱく質は多種多様であり、構成アミノ酸も食品ごとに異なっている。摂食後、小腸から門脈へと輸送されるアミノ酸の吸収過程においては、食事たんぱく質のアミノ酸パターンをよく反映する形で吸収されることが報告されている¹³⁾。日本人が日常的に摂取している各必須アミノ酸は、WHO/FAO/UNU が策定しているアミノ酸評点パターンと比較すると、約 2 倍であることから普段から高アミノ酸食を摂取していることが考えられる。従って、摂取食品を選択し、必須アミノ酸の摂取量を欠乏しないレベルに維持し管理することで、アレルギー疾患に関わる細胞の遺伝子発現や作用を制御することが可能となると考える。また、アミノ酸は水溶性であることから、細胞内に取り込まれるためには輸送体が必要であるが、細胞へのアミノ酸の取り込みに関する研究は未知の部分が多い¹³⁾。今後は、肥満細胞における各必須アミノ酸の輸送機構や、複数の必須アミノ酸を添加した場合のアレルギー関連遺伝子発現の変化などを検討する必要がある。

一方、レチノイン酸がアレルギー症状に及ぼす影響についての研究は様々な面から行われている。レチノイン酸は生体内においてレチノイン酸合成酵素により生成され、all-*trans* レチノイン酸は異性体である 9-*cis* レチノイン酸への変換が可能であり、細胞内の核内受容体であるレチノイン酸受容体とレチノイド X 受容体を介して標的遺伝子に作用し、生理作用を制御

する役割を担っている¹⁴⁾。これまでT細胞を用いた研究が多く報告されており、レチノイン酸のIL-4産生促進とIFN- γ 産生抑制によるTh2細胞分化への促進作用が示されている^{5, 15-17)}。しかし、肥満細胞を用いた本研究においては、all-*trans* レチノイン酸ではHDCの発現を増強したが、IL-4をはじめその他のアレルギー関連遺伝子の発現については、大きな変化が見られなかった。また、9-*cis* レチノイン酸ではいずれのアレルギー関連遺伝子についても、発現を抑制する傾向がみられた。しかし一方で、9-*cis* レチノイン酸添加により細胞増殖率は増加した。つまり9-*cis* レチノイン酸は細胞毒性を生じず、アレルギー抑制作用や抗炎症作用を有することが示唆され、これまでT細胞で報告されている内容と異なった結果となった。このことから、今後は細胞種の違いとレチノイン酸の作用についてさらなる研究が必要である。

現在、アレルギー疾患に対して様々な栄養因子が、免疫機能を調節する作用を有することが報告されている。本研究では、各必須アミノ酸やレチノイン酸がRBL-2H3の細胞増殖率を低下することなく、アレルギー関連遺伝子の発現を増減させることが示された。特にアレルギー関連遺伝子の発現の増加はHisで多くみられ、一方Thr, Trpおよび9-*cis* レチノイン酸ではほとんどが減少した。必須アミノ酸の摂取量は、食品の種類や摂取量に左右されることから、食生活の変化に伴う栄養素の摂取量の変化と食物アレルギーの増加には、摂取する食品に特有な栄養素の関与が考えられる。しかし、レチノイン酸のように、細胞によって及ぼす影響が異なる場合も存在する。今後、種々の栄養素が標的とする細胞や、アレルギーに関連する因子の相互作用を多方面から解析することで、アレルギー疾患を栄養管理の面からコントロールすることが可能であると思われる。

参考文献

- 1) 海老澤元宏：食物アレルギーの診療の手引き 2008 pp. 2-3 (2008) 厚生労働科学研究班
- 2) 矢田純一：免疫・アレルギーの基礎，福田 健編，総合アレルギー学，pp.3-4, 10, 13-14, (2004) 南山堂，東京
- 3) 早川律子：臨床アレルギー学各論，福田 健編，総合アレルギー学，p. 530 (2004) 南山堂，東京
- 4) 吉田 昭：栄養とアミノ酸，(社)日本必須アミノ酸協会編，アミノ酸セミナー，pp. 8-33 (2003) 工業調査会，東京
- 5) Kathleen, A.H., Faye, E.N., Joan, G. and Colleen, E.H.: Retinoic acid enhances the T helper 2 cell development that is essential for robust antibody responses through its action on antigen-presenting cells, *J. Nutr.*, 132 (12), 3736-3739 (2002)

- 6) 田中智之, 市川 厚: ヒスタミン合成の分子機構ーヒスチジン脱炭酸酵素の分子レベルでの解析ー, 渡邊建彦編, 別冊・医学のあゆみ ヒスタミン研究の最近の進歩, pp. 14-18 (2000) 医歯薬出版, 東京
- 7) S. Tanaka, K. Nemoto, E. Yamamura and A. Ichikawa: Intracellular localization of the 74- and 53- kDa forms of L-histidine decarboxylase in rat basophilic/ mast cell line, RBL-2H3, *J. Biol. Chem.*, 273 (14), 8177-8182 (1998)
- 8) Jane, K., Michael, H., Vivian, L., Jacqueline, E.D., Juan, Z., Reuben, P.S. and Gerald, K.: Monomeric IgE stimulates signaling pathways in mast cells that lead to cytokine production and cell survival, *Immunity*, 14 (6), 801-811 (2011)
- 9) 灰野 誠, 松島綱治: 免疫・アレルギーの基礎, 福田 健編, 総合アレルギー学, pp. 33-34 (2004) 南山堂, 東京
- 10) Abul, K.A. and Andrew, H.L.: Basic Immunology Functions and Disorders of the Immune System (2006-2007) / 松島綱治, 山田幸宏訳: 基礎免疫学 免疫システムの機能とその異常, pp. 213-214 (2007) エルセビア・ジャパン, 東京
- 11) Thao, D., Roger, M., Susan, V. and Carl, W.: Lippincott's Illustrated Reviews Immunology (2008) / 矢田純一, 高橋秀実監訳: リッピンコットシリーズ イラストレイテッド免疫学, pp. 54-57 (2009) 丸善, 東京
- 12) 大久保公裕, 熊谷直樹, 河野陽一, 國分二三男, 藤原大美, 古江増隆: 免疫・アレルギー疾患用語解説集, p. 113 (2004) エクセル企画出版, 大阪
- 13) 野口 忠: タンパク質・アミノ酸代謝, 岸 恭一, 西村敏英監, タンパク質・アミノ酸の科学, pp. 66-76 (2007) 工業調査会, 東京
- 14) 植木重治, 糸賀正道, 荏原順一: ビタミンA・局所で生産されるレチノイン酸とアレルギー, 臨床免疫・アレルギー科, 54 (3), 293-299 (2010)
- 15) Roland, G., Andrea, G., Pietro, di, L., Michael, K., Werner, B., I-Cheng, H., Francesco, S. and Paola, P.B.: Inhibition of the retinoid X receptor (RXR) blocks T helper 2 differentiation and prevents allergic lung inflammation, *J. Immunol.*, 176 (9), 5161-5171 (2006)
- 16) Charles, B.S., Reuven, R., Xiaowen, J., Michael, A.C., Casey, T.W., Roshantha, A.S. C. and R. Patterson, B.: Vitamin A enhances in vitro Th2 development via retinoid X receptor pathway, *J. Immunol.*, 168 (9), 4495-4503, (2002)
- 17) M. Iwata, Y. Eshima and H. Kagechika: Retinoic acids exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development via retinoic acid receptors, *Int. Immunol.*, 15 (8), 1017-1025 (2003)