

【第47回 小島三郎記念文化賞】

γδ型T細胞の発見と感染防御機構での役割の解明

Development and function of γδ T cells

よし かい やす のぶ
吉 開 泰 信
Yasunobu YOSHIKAI

はじめに

1977年に九州大学医学部を卒業、内科研修後、九州大学大学院医学研究科(細菌学教室)で武谷健二先生(15代目九大総長、第4回小島三郎記念文化賞)、光山正雄先生(現京大教授、第35回小島三郎記念文化賞)の指導を受け細菌学を学び、生体防御医学研究所で野本亀久雄先生(現九大名誉教授)のもとで免疫学の指導を受けました。当時、野本先生は胸腺摘出マウスを用いた研究の過程で、免疫の中心的役割を担うT細胞にも原始的なものと進化したものとがあると考えられ、この原始的なT細胞を“primitive T cell”と呼ぶことを提唱されていました¹⁾。しかしまだ分子レベルでその存在が証明はできていませんでした。そのような折、1983年トロント大学オンタリオ癌研究所に留学する機会を得て、Tak.W.Mak教授のご指導のもと、ヒトおよびマウスのT細胞レセプター(TCR)遺伝子のクローニングと、その構造解析の研究に携わることができました^{2~5)}。T細胞とB細胞のmRNAのサブトラクション法とSouthern blottingによる遺伝子再編成の有無により、TCRβ鎖、α鎖に加えて第3のTCRγ鎖が存在することがわかりました^{6~9)}。さらにα鎖遺伝子のゲノム解析からδ鎖遺伝子がみつき、さらに膜蛋白としてγδヘテロダイマーが同定されたことによって、αβ型T細胞に加えて、第2のT細胞のγδ型T細胞の存在がはじめて明らかとなりました。γδ型T細胞の個体発生早期での分化過程や末梢組織分布からこの第2のT細胞こそが野本先生の提唱されていた“primitive T cell”だと確信して、1986年に九州大学

生体防御医学研究所にもどってから、γδ型T細胞のリステリアおよびマイコバクテリア(BCG)感染防御機構での役割を検討した結果、感染早期に出現して、菌の排除に働くことをみつけ、γδ型T細胞は好中球やマクロファージによる自然免疫とαβ型T細胞による適応免疫のギャップを埋める役割を担うことを明らかにしました^{10~12)}。1991年に名古屋大学医学部に赴任してからも、γδ型T細胞がサルモネラと大腸菌のグラム陰性桿菌細菌感染症とセンダイウイルスと単純ヘルペスウイルス感染症の早期の感染防御機構を担うとともに、適応免疫の誘導への橋渡しとして重要な役割を果たしていることを発見しました^{13~51)}。γδ型T細胞が自然免疫のパターン認識レセプターであるToll様レセプター2(TLR-2)を発現することを見いだして、自然免疫としての機能を有することを直接に証明しました³⁹⁾。また腸管や皮膚の存在する感染症での感染早期に出現してくるγδ型T細胞は、上皮や樹状細胞から産生されるインターロイキン15(IL-15)をその増殖、維持因子として使用していることを明らかにしました²⁶⁾。2002年に九州大学生体防御医学研究所にもどってから、γδ型T細胞のなかにγインターフェロン(IFN)を産生するものの他に、原始的なIL-17を産生するγδ型T細胞がナイーブマウスの胸腺や粘膜組織に存在することを見いだしました。さらにその胎生期の胸腺での分化の分子機構を解明するとともに、この自然発生IL-17産生γδ型T細胞が大腸菌感染症、カンジダ感染症および結核感染症の初期感染防御の好中球の動員に重要な役割を担っていること^{15~31)}、また膀胱癌でのBCG免疫療法の機序として、膀胱

内で活性化される IL-17 産生 $\gamma\delta$ 型 T 細胞が抗腫瘍効果を担っていることを明らかにしました^{52~60}。今回の受賞はこれまでの $\gamma\delta$ 型 T 細胞の研究を評価していただいたものと理解して、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞の“primitive T cell”としての特徴を紹介させていただきます。

I. $\gamma\delta$ 型 TCR の構造

γ 、 δ 遺伝子は、 α 、 β 鎖遺伝子に比べて V 領域遺伝子断片が少ないのが特徴である。 γ 鎖遺伝子はヒトでは第 7 染色体、マウスでは第 13 染色体上に位置する。C γ 領域をコードする C γ 遺伝子はマウスで 4 個存在する。ヒトでは 5 個の J γ 遺伝子、14 個の V γ 遺伝子、マウスでは 4 個の J γ 遺伝子と 7 個の V γ 遺伝子が同定されている。 δ 鎖遺伝子はマウスとヒトともに TCR α 鎖遺伝子と同じ第 14 染色体上にある。ヒトでは 1 個の C δ 遺伝子および各々 3 個ずつの D δ 、J δ 遺伝子、マウスでは各々 2 個ずつの D δ および J δ 遺伝子が同定されている。

$\gamma\delta$ 型 TCR の多様性は免疫グロブリン遺伝子と同様に V、D、J 各遺伝子の再構成によって産生される。体細胞高頻度突然変異はみられない。 $\gamma\delta$ 型 TCR には免疫グロブリン遺伝子と同様に 3 箇所の超可変領域 (complementarity-determinant region : CDR) が認められる。体細胞高頻度突然変異はみられず、再構成の結果生まれる CDR3 が抗原特異性決定に重要と考えられる $\gamma\delta$ 型 TCR の結晶構造解析から TCR の V γ 領域と V δ 領域の CDR が平らな面を形成し、まん中に V γ の V-J 結合部と V δ VDJ の結合部より成る CDR3 がくる。 $\gamma\delta$ 型 TCR の δ 鎖の CDR3 は長く、 γ 鎖の CDR3 とで溝を形成している。この溝に抗原が入り込む可能性が考えられる。 $\gamma\delta$ 型 TCR 抗体の H 鎖によく似ており、抗体同様に直接抗原を認識していると考えられる⁶¹。

II. $\gamma\delta$ 型 T 細胞の分化

$\gamma\delta$ 型 T 細胞は $\alpha\beta$ 型 T 細胞より個体発生早期に分化するのが特徴である^{62, 63}。 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は $\alpha\beta$ 型 T 細胞と共通のリンパ球前駆細胞 (common lymphoid progenitor : CLP) から分化してくる (図 1)。一部の $\gamma\delta$ 型 T 細胞や $\alpha\beta$ 型 T 細胞は胸腺外でも分化できるが、大多数は胸腺で分化する。胸腺に入ったプ

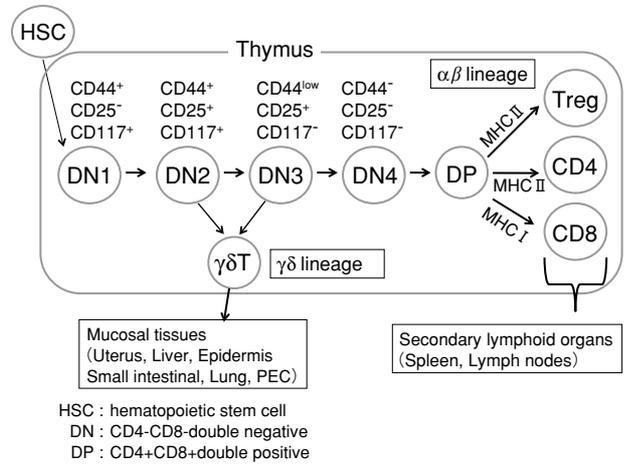


図 1 胸腺での $\gamma\delta$ T 細胞の分化

ロ T 細胞 (DN1 : CD4-CD8-CD44+CD25-c-kit+) は、CD25 の発現 (DN2)、さらに CD44 の低下 (DN3) が起こり、この時期にほぼ同時に β 、 γ および δ 鎖遺伝子の再編成が起こる。 γ 、 δ 鎖遺伝子再編成により、 $\gamma\delta$ 型 TCR が発現され、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞へ分化する。 $\gamma\delta$ 型 T 細胞への分化の決定には様々な因子が関与している。CPL からプロ T 細胞への分化に必須である Notch-1 からのシグナルは、T 細胞への分化に重要である。IL-7R $\alpha/c\gamma$ からのシグナルは転写因子 STAT-5 の活性化によって TCR V γ germ line transcript を誘導し、さらに γ -J γ 遺伝子再編成を誘導する。IL-7R $\alpha/c\gamma$ からのシグナルは V γ -J γ 遺伝子再編成を誘導する。HEB は、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞の分化により重要な転写因子で、HEB のインヒビター Id3 は $\gamma\delta$ 型 T 細胞への分化を促進する。WNT シグナルは β カタニンとともに転写因子 T cell factor-1 (TCF-1) と lymphoid enhancer factor-1 (LEF-1) の発現を誘導して $\alpha\beta$ T 細胞への分化を誘導する。一方、TCF-1 に拮抗する SOX13 は $\gamma\delta$ 型 T 細胞特異的転写因子と考えられている。大部分の $\alpha\beta$ 型 T 細胞は末梢リンパ組織で外来抗原に出会ってサイトカイン産生細胞へと機能分化する。一方、大部分の $\gamma\delta$ 型 T 細胞は胎生期胸腺の分化の段階ですでに IFN- γ や IL-17 産生細胞に機能分化していることが特徴である。われわれは Notch-Hes1 経路が IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞分化に必要であることを見いだした。一方、Notch-Hes1 経路が遮断されることで IFN- γ 産生 $\gamma\delta$ T 細胞へさらに分化すると考えられる⁵⁸。

胎生期胸腺での分化において、マウスでは、 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は 2 つの波で現われ、それぞれの波で分化

した2種類の $\gamma\delta$ 型T細胞は成熟マウスで異なる場所に分布する。最初の波で分化する $\gamma\delta$ 型T細胞はV γ 5-J γ 1/V δ 1-D δ 2-J δ 2を発現して表皮へホーミングし、表皮内樹状細胞 (s-IEL) となる。第2の波で分化する $\gamma\delta$ 型T細胞はV γ 6-J γ 1/V δ 1-D δ 2-J δ 2を発現しており、生殖器官の上皮内にホーミングして reproductive IEL (r-IEL) となる。個体発生の後期になると $\gamma\delta$ 型T細胞は胎生早期のものとは異なりN領域の塩基の多様性が認められる。これらの $\gamma\delta$ 型T細胞の大多数は上皮内ではなく、 $\alpha\beta$ 型T細胞と同様に末梢リンパ組織に認められる。したがって脾臓やリンパ節にはV γ 1またはV γ 4 $\gamma\delta$ 型T細胞が多く存在し、皮膚にはV γ 5、子宮腔にはV γ 6 $\gamma\delta$ 型T細胞が多く存在する。われわれは腹腔内や肝臓、肺にもV γ 6 $\gamma\delta$ 型T細胞が比較的多く存在することを見いだした。

胎生期胸腺ですでに機能分化しているIL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞はV γ 6またはV γ 4 $\gamma\delta$ 型T細胞に多く、子宮、腹腔、肺に多く存在する。一方、IFN- γ 産生 $\gamma\delta$ T細胞はV γ 1を発現している $\gamma\delta$ 型T細胞に多く認められる。末梢でのIL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞の維持にもNotch-Hes1経路が関与している。IFN- γ 産生型はCD27+CD122+NK1.1+でIL-15をその維持因子に使う。一方、IL-17産生型はCD27-CD25+で、IL-23がその維持に関与する⁶¹⁾(図2)。

Ⅲ. $\gamma\delta$ 型TCRの抗原認識

ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞において末梢で多数を占めるV γ 9/

V δ 2T細胞はマイコバクテリアなどの細菌由来のピロリン酸モノエステルなどの非ペプチド抗原を認識する。自己抗原として isopentenyl pyrophosphate があげられ、アルキルアミンはステロール合成経路を阻害することでピロリン酸モノエステルなどの非ペプチド抗原を自己細胞に蓄積させる。一方、腸管上皮間に多く存在するV δ 1T細胞は、ストレスで誘導されるMHCクラスI様分子であるMIC-A、MIC-Bを認識する⁶¹⁾。

マウスでもMHCクラスI様分子であるT10、T22を認識する $\gamma\delta$ 型T細胞が報告されている。MHCクラスII分子IEk、s、dに特異的な $\gamma\delta$ T細胞ハイブリドーマとTL10b特異的 $\gamma\delta$ T細胞ハイブリドーマを用いての詳細な抗原認識機構が行われた結果、これら $\gamma\delta$ 型T細胞には抗原プロセッシングや抗原提示は必要でなく、またこれらMHC分子のペプチド結合溝の外側を認識することが明らかとなった。germ lineでコードされた一定の領域が直接、抗原のプロセッシングなどの必要がないリガンドを認識することは自然免疫のパターン認識レセプターと相通ずるものがある。

Ⅳ. $\gamma\delta$ 型T細胞の機能

1. 感染防御

$\gamma\delta$ TCR抗体またはTCR δ 鎖遺伝子ノックアウトで $\gamma\delta$ 型T細胞の感染防御での役割が検証された。細菌では *Mycobacterium tuberculosis* や *Listeria mono-*

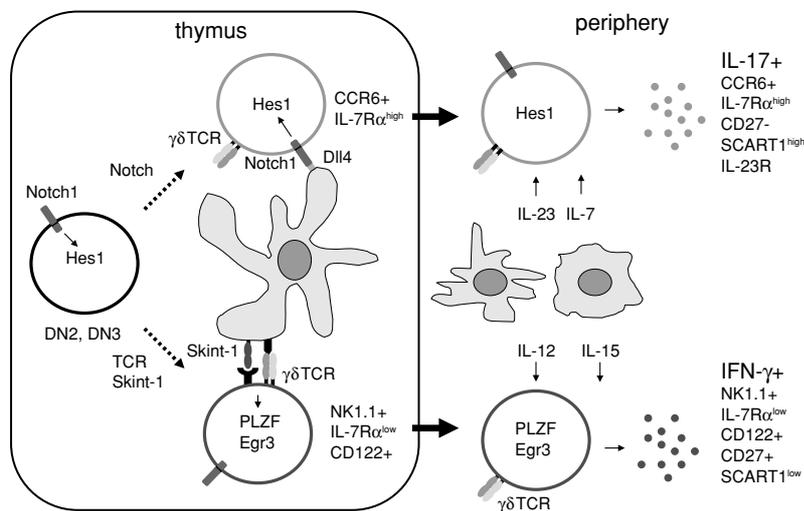


図2 $\gamma\delta$ T細胞の機能分化

cytogenes で感染抵抗性の減弱がみられ、組織学的には病変部位には肉芽腫の形成がみられず、代わりに好中球が多数集積した膿瘍がみられた。 $\gamma\delta$ 型 T 細胞は細胞内寄生性細菌の感染初期の防御機構として、また感染局所の肉芽腫の病変形成に関与していると考えられる。マウスの大腸菌感染症で $\gamma\delta$ 型 T 細胞が著増する。マウスの腹腔内で増加してくる $\gamma\delta$ 型 T 細胞をセルソーターで単離して、その TCR レパートアーは、N 多様性がない V γ 6/V δ 1-J δ 2 を発現していた。この $\gamma\delta$ 型 T 細胞は Toll-like receptor を発現しており、さらにこの $\gamma\delta$ 型 T 細胞は、TCR 刺激により感染早期に IL-17 を産生することによりマクロファージを感染局所へ集簇させ、好中球とマクロファージとの橋渡しの役割を行い、感染防御に働いていることが分かった。

$\gamma\delta$ 型 T 細胞は既に胸腺で機能分化しており、IFN- γ を産生する Th1 タイプと IL-17 を産生する Th17 タイプに分類される。*Candida albicans* の全身感染症モデルでは感染 1 日目の肺でこの自然発生 IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞がマクロファージや樹状細胞の TLR-2 依存性に産生された IL23 によって活性化され、IL-17 を分泌して好中球を集積させて感染初期防御に働く⁵⁹⁾。*Listeria monocytogenes* や BCG 感染モデルでもこの自然発生 IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞が感染早期に働く。

腫瘍免疫においても $\gamma\delta$ 型 T 細胞の多彩な機能が見られる。細胞障害活性は抗腫瘍に働く反面、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞の抗腫瘍活性を制御する $\gamma\delta$ 型 T 細胞の報告も見られる。感染や腫瘍の種類や場の違いによってそれぞれ多様な $\gamma\delta$ 型 T 細胞が活性化されて生体防御/恒常性に維持を担っていると考えられる。われわれは膀胱癌への BCG 免疫療法の抗腫瘍効果の機序としてこの自然発生 IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞が関与していることを見いだしている⁵⁷⁾。

2. 腸管免疫

腸管上皮内 $\gamma\delta$ 型細胞 (i-IEL) は IL-5 などの Th2 タイプのサイトカインや IgA へのクラススイッチに重要な TGF- β を産生する。 $\gamma\delta$ 型 i-IEL がこの特性で全身での免疫寛容に対するコントラプレッサー細胞として、局所においては IgA 産生のヘルパー T 細胞として働いていると考えられている。一方で、 $\gamma\delta$ 型 i-IEL は IL-10 を産生する $\alpha\beta$ 型 Tr1 細胞の誘導に働く可

能性も示唆されている。われわれはマウス急性移植片対宿主反応 Graft-versus-host reaction : GVHD) において、 $\gamma\delta$ 型 i-IEL の持つこの機能が亢進することによって、GVHD の腸管病変に関与している可能性を見いだした。本来、古くなった上皮細胞を Fas/Fas-L システムでアポトーシスを誘導させる $\gamma\delta$ 型 i-IEL が GVHD によって異常に活性化され、自己免疫様の腸管病変を引き起こしたと考えている⁶³⁻⁶⁷⁾。

3. 皮膚免疫

表皮の $\gamma\delta$ 型 T 細胞は GVHD による病変を抑制する。オキザトロンやピクリル酸による接触性皮膚炎のモデルにおいて、抗原の前投与によって生じる高濃度トランスに $\gamma\delta$ 型 T 細胞が関与しており、 $\alpha\beta$ 型 T 細胞による炎症反応を抑制することが報告されている。これらの $\gamma\delta$ 型 T 細胞により抑制の機序として、TGF- β 、IL-10 を含めた Th2 タイプサイトカイン産生によると考えられている⁶⁸⁾。

4. 生殖器官免疫

子宮と膣の女性生殖器の上皮細胞間にもリンパ球が見つかっている。非妊娠子宮で約 6~8% が $\gamma\delta$ 型 T リンパ球である。子宮 $\gamma\delta$ 型 T 細胞の V レパートアーは V γ 6-J γ 1/V δ 1-D δ 2-J δ 2 からなり、結合部の N 多様性は認められない。胎生期後期の胸腺で分化したと考えられる。CD3 ζ ホモダイマーではなく、FC ϵ RI γ 鎖を使用している。妊娠時の脱落膜中の $\gamma\delta$ 型 T 細胞が非妊娠時に比べ、有意に増加する。子宮 $\gamma\delta$ 型 T 細胞はトロホプラストを MHC クラス I やクラス Ib の関与なしに種を越えて認識できる。このタイプの子宮 $\gamma\delta$ 型 T 細胞がトロホプラスト上の保存された分子を認識している可能性が考えられる。流産の原因のひとつである抗胎児免疫応答に主体をなすのは Th1 型ヘルパー T 細胞であり、産生されたサイトカイン (IL-2、 γ IFN、TNF) によって活性化された CD8 キラー T 細胞や NK 細胞が胎児の拒絶に働く。われわれは妊娠によって増加し、活性化される子宮 $\gamma\delta$ 型 T 細胞が TGF- β を産生することによって、母体の $\alpha\beta$ 型 T 細胞による抗胎児拒絶反応を抑制することを見いだした。子宮 $\gamma\delta$ 型 T 細胞も免疫制御によって妊娠維持機構を担うと考えられよう。一方、単純ヘルペスウイルス 2 型の膣感染マウスモデルを用いた解析により、膣の V δ 1 陽性細胞

$\gamma\delta$ 型 T細胞が IFN γ を産生して感染初期防御に働くとともに、Th1細胞を誘導することが感染防御に重要であることを報告した⁴⁹⁾。子宮に存在する $\gamma\delta$ 型 T細胞と同じ V γ 6/V δ 1-J δ 2 を持つ $\gamma\delta$ 型 T細胞は CD25 陽性サブセットは IL-17 を産生し、CD122 陽性サブセットが IFN- γ を産生することを明らかにした⁵³⁾。しかし子宮の $\gamma\delta$ T細胞がどのような刺激を受け、どのようなメカニズムで機能分化しているのかは不明な点が多い。

おわりに

30年以上前に野本教授が“primitive T cell”の存在を予想され、今回の一連の $\gamma\delta$ 型 T細胞の研究でその仮説の一部が実証できたと思っている。最近、免疫していなくとも、あらかじめ記憶細胞の特徴を有し、感染早期に自然免疫として働く Tリンパ球を、自然免疫 Tリンパ球 (innate T cell) と呼ぶことが提唱された⁷⁰⁾。通常の Tリンパ球 (conventional T cell) と異なり、自然免疫 T細胞は胸腺で特異的な分化経路を有し、自己抗原を認識し、メモリー型のフェノタイプを示す。われわれの提唱する $\gamma\delta$ 型 T細胞だけでなく NKT細胞、MHC クラス Ib 拘束性 CD8T細胞などがこの T細胞に相当すると考えられている。感染症に対する宿主応答の研究のなかで見いだされた primitive T cell, innate T cell の存在意義が大きくなるにつれて、免疫学のパラダイムシフトとなるのではと期待している。今回の第 47 回小島三郎記念文化賞の受賞を励みに、今後ますます、「感染症と宿主応答」の研究を邁進したいと考えております。

謝 辞

このたび、伝統ある小島三郎記念文化賞を受賞するにあたり、ご推薦いただきました名古屋大学教授 西山幸廣先生と選定いただいた選考委員の先生方、および黒住医学研究振興財団の皆様には厚く御礼申し上げます。また本日の受賞の源となった恩師 野本亀久雄先生はじめ、共同研究者、スタッフの皆様はこの場を借りて感謝申し上げます。

文 献

- 1) Nomoto, K.: The host defense-proposal of primitive T cell response (PT response)]. *Arerugi*. **44** : 59-63, 1995.
- 2) Yoshikai, Y., Anatoniou, D., Clark, S.P., Yanagi, Y., Sangster, R., Van den Elsen, P., Terhorst, C., Mak, T.W.: Sequence and expression of transcripts of the human T-cell receptor beta-chain genes. *Nature* **312** : 521-524, 1984.
- 3) Yoshikai, Y., Yanagi, Y., Susiu-Foca, N. and Mak, T.: Presence of T cell receptor mRNA in functional distinct T-cells and elevation during intrathymic differentiation. *Nature* **310** : 506-508, 1984.
- 4) Yoshikai, Y., Clark, S.P., Taylor, S., Sohn, U., Wilson, B.I., Minden, M.D., and Mak, T.W.: Organization and sequence of the variable, joining and constant region genes of the human T-cell receptor alpha chain. *Nature* **316** : 837-840, 1985.
- 5) Yoshikai, Y., Kimura, N., Toyonaga, B., and Mak, T.W.: Sequences and repertoire of human T cell receptor α chain variable region genes in mature T cell receptor β chain variable region genes. *J.Exp.Med.* **164** : 739-750, 1986.
- 6) Hayday, A.C., Saito, H., Gillies, S.D., Kranz, D.M., Tanigawa, G., Eisen, H.N., Tonegawa, S.: Structure, organization, and somatic rearrangement of T cell gamma genes. *Cell*. **40** : 259-269, 1985.
- 7) Yoshikai, Y., Reis, M., and Mak, T.W.: Athymic mice express a higher level of functional γ chain but greatly reduced level of α and β chain T cell receptor messages. *Nature* **324** : 482-485, 1986.
- 8) Yoshikai, Y., Toyonaga, B., Koga, Y., Kimura, N., griesser, H., and Mak, T.W.: Repertoire of the human T cell gamma genes : High frequency of nonfunctional transcripts in thymus and mature T cells. *Eur.J.Immunol.* **17** : 119-126, 1987.
- 9) Yoshikai, Y., Matsuzaki, G., Kishihara, K., Yokokura, T., and Nomoto, K.: Age-associated increase in the expression of T cell antigen receptor γ gene in conventional and germfree mice. *Infect. Immun.* **56** : 2069-2074, 1988.
- 10) Ohga, S., Yoshikai, Y., Takeda, Y., Hiromatsu, K. and Nomoto, K.: Sequential appearance of γ/δ -and α/β -bearing T cells in the peritoneal cavity during an i.p. infection with *Listeria monocytogenes*. *Eur.J.Immunol.* **20** : 533-538, 1990.
- 11) Inoue, T., Yoshikai, Y., Matsuzaki, G., and Nomoto, K.: Early appearing γ/δ -bearing T cells during infection with Calmette Guérin bacillus. *J.Immunol.* **146** : 2754-2762, 1991.
- 12) Hiromatsu, K., Yoshikai, Y., Matsuzaki, G., Ohga, S., Muramori, K., Matsumoto, K., Bluestone, J.A., and Nomoto, K.: A protective role of γ/δ T cells in primary infection with *Listeria monocytogenes* in mice. *J.Exp.Med.* **175** : 49-56, 1992.
- 13) Emoto, M., Danbara, H. and Yoshikai, Y.: Induction of γ/δ T cells in murine salmonellosis by avirulent but not by a virulent strain of *Salmonella choleraesuis*. *J.Exp.Med.* **176** : 363-372, 1992.
- 1) Nomoto, K.: The host defense-proposal of primitive T cell

- 14) Hara, T., Mizuno, Y., Takaki, K., Takeda, H., Akeda, H., Aoki, T., Nagata, M., Ueda, K., Matsuzaki, G., Yoshikai, Y. and Nomoto, K.: Predominant activation and expansion of V γ 9-bearing $\gamma\delta$ cells in vivo as well as in vitro in Salmonella infection. *J.Clin.Invest.* **90** : 204-210, 1992.
- 15) Takeuchi, M., Miyazaki, H., Hirokawa, K., Yokokura, T. and Yoshikai, Y.: Age-related changes of T cell subsets in intestinal intraepithelial lymphocytes of mice. *Eur.J. Immunol.* **23** : 1409-1411, 1993.
- 16) Emoto, M., Naito, T., Nakamura, R. and Yoshikai, Y.: Different appearance of $\gamma\delta$ T cells during salmonellosis between Ityr and Itys mice. *J.Immunol.* **150** : 3411-3420, 1993.
- 17) Hara, T., Matsumoto, T., Mizuno, Y., Nishizaki, M., Ueda, K., Motooka, M., Kimura, N., Oshimi, K., Ohga, S. and Yoshikai, Y.: Peripheral expansion of $\gamma\delta$ T cell receptor-positive cells in a patient with Crohn's disease. *Acta. Paediatrica. Japonica.* **35** : 45-48, 1993.
- 18) Li, X.Y., Matsuzaki, G., Yoshikai, Y., Muramori, K. and Nomoto, K.: T cells expressing both L-selection and CD44 molecules increase in number in peritoneal exudate cells and in vitro-stimulated spleen cells from mice immunized intraperitoneally with *Listeria monocytogenes*. *Immunology* **78** : 28-34, 1993.
- 19) Matsuzaki, G., Ogimoto, M., Yoshikai, Y., Seki, R. and Nomoto, K.: Extensive N nucleotide addition in junctional region of T cell receptor V γ 5 genes rearranged in fetal liver-derived thymocytes in radiation chimera mice. *Eur.J. Immunol.* **23** : 3345-3349, 1993.
- 20) Matsuzaki, G., Hiromatsu, K., Yoshikai, Y. Murosaki, K. and Nomoto, K.: Characterization of T-cell receptor $\gamma\delta$ T cells appearing at the early phase of murine *Listeria monocytogenes* infection. *Immunology.* **78** : 22-27, 1993.
- 21) Tomida, S., Hasegawa, T., Takeuchi, M., Niimi, N., Ueda, M., Kaneda, T., Miyasaka, M. and Yoshikai, Y.: ICAM-1 and LFA-1 are involved in protection mediated by $\gamma\delta$ T cells at the early stage after infection *Listeria monocytogenes* in rats. *Int. Immunol.* **6** : 955-962, 1994.
- 22) Ogasawara, T., Emoto, M., Kiyotani, K., Shimokata, K., Yoshida, T., Nagai, Y. and Yoshikai, Y.: Sendai virus pneumonia : evidence for the early recruitment of $\gamma\delta$ T cells during the disease course. *J.Virol.* **68** : 4022-4027, 1994.
- 23) Nishimura, H., Emoto, M., Sakai, T., Katsuno, M., Hiromatsu, K., Gomi, H., Ikeda, T., Itohara, S. and Yoshikai, Y.: The role of $\gamma\delta$ T cells in priming macrophages to produce TNF- α . *Eur.J.Immunol.* **25** : 1465-1468, 1995.
- 24) Suzuki, T., Hiromatsu, K., Ando, Y., Tomoda, Y. and Yoshikai, Y.: Regulatory role of $\gamma\delta$ T cells in uterine intraepithelial lymphocytes in maternal anti-fetal immune responses. *J.Immunol.* **154** : 4476-4484, 1995.
- 25) Nishimura, H., Hiromatsu, K., Kobayashi, N., Grabstein, K.H., Paxton, R., Sugamura, K., Bluestone, J. A. and Yoshikai, Y.: IL-15 is a novel growth factor for murine $\gamma\delta$ T cells induced by *Salmonella* infection. *J. Immunol.* **156** : 663-669, 1996.
- 26) Inagaki-Ohara, K., Nishimura, H., Mitani, A. and Yoshikai, Y.: Interleukin-15 preferentially promotes the growth of intestinal intraepithelial lymphocytes bearing $\gamma\delta$ T cell receptor in mice. *Eur.J.Immunol.* **27** : 2885-2891, 1997.
- 27) Sakai, T., Kimura, Y., Inagaki-Ohara, K., Kusugami, K., Lynch, David, H. and Yoshikai, Y.: Fas-mediated cytotoxicity by host intestinal intraepithelial lymphocytes is involved in the enteropathy during acute graft-vs.-host disease. *Gastroenterology.* **113** : 168-174, 1997.
- 28) Kobayashi, Y., Kawai, K., Ito, K., Honda, H., Sobue, G. and Yoshikai, Y.: Aggravation of murine experimental allergic encephalitis by T cell receptor $\gamma\delta$ -specific antibody. *J.Neuroimmunol.* **73** : 169-174, 1997.
- 29) Sakai, T., Kusugami, K., Nishimura, H., Ando, T., Yamaguchi, T., Ohsuga, M., Ina, K., Enomoto, A., Kimura, Y. and Yoshikai, Y.: Interleukin 15 Activity in the Rectal Mucosa of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology.* **114** : 1237-1243, 1998.
- 30) Takano, M., Nishimura, H., Kimura, Y., Mokuno, Y., Washizu, J., Itohara, S., Nimura, Y. and Yoshikai, Y.: A protective role of IL-15-dependent $\gamma\delta$ T cells in *Escherichia coli* infection in mice. *Infect.Immun.* **66** : 3270-3278, 1998.
- 31) Takano, M., Nishimura, H., Kimura, Y., Washizu, J., Nimura, Y. and Yoshikai, Y.: Prostaglandin E2 protects against liver injury after *Escherichia coli* infection but hampers the resolution of the infection in mice. *J.Immunol.* **161** : 3019-3025, 1998
- 32) Hirose, K., Suzuki, H., Nishimura, H., Mitani, A., Washizu, J., Matsuguchi, T. and Yoshikai, Y.: Interleukin-15 might be responsible early activation of intestinal intraepithelial lymphocytes after oral infection with *Listeria monocytogenes* in rats. *Infect. Immun.* **66** : 5677-5683, 1998.
- 33) Yoshikai, Y.: The interaction of intestinal epithelial cells and intraepithelial lymphocytes in host defense. *Immunol. Res.* **20** : 219-235, 1999. (Review)
- 34) Nishimura, H., Washizu, J., Naiki, Y., Fukui, Y., Sasazuki, T. and Yoshikai, Y.: MHC class II-dependent NK1.1+ $\gamma\delta$ T cells are induced in mice by *Salmonella* infection. *J.Immunol.* **162** : 1573-1581, 1999.
- 35) Yoshikai, Y. and Nishimura, H.: The role of interleukin 15 in mounting an immune response against microbial infections *Microbes. Infect.* **2** : 381-389, 2000. (Review)
- 36) Naiki, Y., Nishimura, H., Itohara, S., and Yoshikai, Y.: $\gamma\delta$ T cells may dichotomously modulate infection with avirulent *Salmonella choleraesuis* via IFN- γ and IL-13 in mice. *Cell. Immunol.* **49** : 157-164, 2000.
- 37) Nishimura, H., Yajima, T., Naiki, Y., Tsunobuchi, H., Umemura, M., Itano, K., Matsuguchi, T., Suzuki, M., Ohashi, P, M., and Yoshikai, Y.: Differential roles of IL-15 mRNA isoforms generated by alternative splicing in immune responses in vivo. *J.Exp.Med.* **191** : 157-170, 2000.
- 38) Matsuguchi, T., Takagi, K., Musikacharoen, T., and Yoshikai, Y.: Gene expressions of lipopolysaccharide

- receptors, Toll-like receptors 2 and 4, are differently regulated in mouse T lymphocytes. *Blood* **95** : 1378-1385, 2000.
- 39) Mokuno, Y., Matsuguchi, T., Takano, M., Nishimura, H., Washizu J., Ogawa T., Nimura, Y. and Yoshikai Y.: Expression of Toll-like receptor 2 on $\gamma\delta$ T cells bearing invariant V γ 6/V δ 1 induced by *Escherichia coli* infection. *J. Immunol.* **165** : 931-940, 2000.
 - 40) Yoshikai, Y.: The role of prostaglandins and leukotrienes in acute inflammation caused by bacterial infection *Curr. Opin. Infect. Disease* **14** : 257-264, 2001.
 - 41) Nishimura, H., Tagaya, M., Tsunobuchi, H., Suzuki, H., Nakashima, I., and Yoshikai, Y.: Mice lacking IL-2/IL-15 receptor β chain are susceptible but mice lacking IL-2 are resistant to infection with avirulent *Salmonella choleraesuis*. *Infect. Immun.* **69** : 1226-1229, 2001.
 - 42) Musikachoen, T., Matsuguchi, T., Kikuchi, T. and Yoshikai, Y.: NF- κ B and STAT5 play important roles in the regulation of mouse Toll-like receptor 2 gene expression *J.Immunol.* **166** : 4516-4524, 2001.
 - 43) Hara, T., Nishimura, H., and Yoshikai, Y.: Thymus-dependent modulation of Ly49 inhibitory receptor expression on NK1.1+ $\gamma\delta$ T cells. *Immunology* **102** : 24-30, 2001.
 - 44) Matsuzaki, G., Yamada, H., Kishihara, K., Yoshikai, Y., Nomoto, K.: Mechanism of murine V γ 1+ γ delta T cell-mediated innate immune response against *Listeria monocytogenes* infection. *Eur J Immunol.* **32** : 928-935, 2002.
 - 45) Shimizu, H., Matsuguchi, T., Fukuda, Y., Nakano, I., Hayakawa, T., Takeuchi, O., Akira, S., and Yoshikai, Y.: Toll-like receptor 2 contributes to liver injury induced by *Salmonella* infection through Fas ligand expression on NKT cells in mice. *Gastroenterology*, **123** : 1265-1277, 2002.
 - 46) Hiromatsu, T., Yajima, T., Matsuguchi, T., Nishimura, H., Wajjwalku, W., Arai, T., Nimura, Y., and Yoshikai, Y.: Overexpression of IL-15 protects against *Escherichia coli*-induced shock accompanied by inhibition of TNF- α -induced apoptosis *J. Infect.Dis.* **187** : 1442-1451, 2003.
 - 47) Matsuguchi, T., Masuda, A., Sugimoto, K., Nagai, Y. and Yoshikai, Y.: JNK-interacting protein 3 associates with Toll-like receptor 4 and is involved in LPS-mediated JNK activation *EMBO J.* **22** : 4455-4464, 2003.
 - 48) Tagawa, T., Nishimura, H., Yajima, T., Hara, H., Kishihara, K., Matsuzaki, G., Yoshino, I., Maehara, Y. and Yoshikai, Y.: V δ 1+ $\gamma\delta$ T cells producing CC-chemokines may bridge a gap between neutrophils and macrophages in innate immunity during *Escherichia coli* infection in mice *J.Immunol.* **173** : 5156-5164, 2004.
 - 49) Nishimura, H., Yajima, T., Kagimoto, Y., Ohata, M., Watase, T., Kishihara, K., Goshima, F., Nishiyama, Y., and Yoshikai, Y.: Intraepithelial $\gamma\delta$ T cells may bridge a gap between innate and acquired immunity to herpes simplex virus type 2 *J.Virol.* **78** : 4927-4930, 2004.
 - 50) Musikachoen, T., Oguma, A., Yoshikai, Y., Chiba, N., Masuda, A., Matsuguchi, T.: Interleukin-15 induces IL-12 receptor β 1 gene expression through PU.1 and IRF 3 by targeting chromatin remodeling. *Blood.* **105** : 711-720, 2005.
 - 51) Nishimura, H., Fujimoto, A., Naoyuki, T., Yajima, T., Wajjwalku, W. and Yoshikai, Y.: A novel autoregulatory mechanism for transcriptional activation of IL-15 gene by non-secretable Isoform of IL-15 generated by alternative splicing *FASEB J* **19** : 19-28, 2005.
 - 52) Yu, Q., Tang, C., Xun, S., Yajima, T., Takeda, K. and Yoshikai, Y.: MyD88-dependent signaling for IL-15 production is important for the development of CD8 $\alpha\alpha$ and TCR $\gamma\delta$ intestinal intraepithelial T lymphocytes *J.Immunol.* **176** : 6180-6185, 2006.
 - 53) Shibata, K., Yamada, H., Hara, H., Kishihara, K., and Yoshikai, Y.: Resident V δ 1+ $\gamma\delta$ T cells control early infiltration of neutrophils after *Escherichia coli* infection via IL-17 production *J.Immunol.* **178** : 4466-4472, 2007.
 - 54) Nakazato, K., Yamada, H., Yajima, T., Kagimoto, Y., Kuwano, H. and Yoshikai, Y.: Enforced expression of Bcl-2 restores numbers but not functions of TCR $\gamma\delta$ intestinal intraepithelial T lymphocytes in IL-15-deficient mice. *J.Immunol.* **178** : 757-764, 2007.
 - 55) Shibata, K., Yamada, H., Nakamura, R., Sun, X. Itsumi M., and Yoshikai, Y.: Identification of CD25+CD122- $\gamma\delta$ T cells as fetal thymus-derived naturally occurring IL-17 producers. *J.Immunol.* **181** : 5940-5947, 2008.
 - 56) Nakamura, R., Shibata, K., Yamada, H., Shimoda, K., Nakayama, K., and Yoshikai, Y.: Tyk2-signaling plays an important role in host defense against *Escherichia coli* through IL-23-induced IL-17 production by $\gamma\delta$ T cells. *J.Immunol.* **181** : 2071-2075, 2008.
 - 57) Takeuchi, A., Dejima, T., Yamada, H., Shibata, K., Nakamura, R., Eto, M., Nakatani, T., Naito, S., and Yoshikai Y.: IL-17 production by $\gamma\delta$ T cells is important for the antitumor effect of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin treatment against bladder cancer. *Eur. J. Immunol.* **41** : 246-251, 2011.
 - 58) Shibata, K., Yamada, H., Sato, T., Dejima, S., Nakamura, M., Ikawa, T., Hara, H., Yamasaki, S., Kageyama, R., Iwakura, Y., Kawamoto, H., Toh, H. and Yoshikai, Y.: Notch-Hes1 pathway is required for the development of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells. *Blood* **118** : 586-593, 2011.
 - 59) Dejima, T., Shibata, K., Yamada, H., Hara, H., Iwakura, Y., Naito, S. and Yoshikai, Y.: A protective role of naturally occurring IL-17A-producing $\gamma\delta$ T cells in the lung at the early stage of systemic candidiasis in mice. *Infect. Immun.* **79** : 4503-4510, 2011.
 - 60) Shibata, K., Yoshikai, Y.: Functions of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells *The Open Immunology Journal*, **2** : 151-155, 2009. (Review)
 - 61) Chien, Y-H., et. al.: Recognition by gamma/delta T cells. *Annu Rev Immunol* **14** : 511-532, 1996.
 - 62) Hayday, A.C.: $\gamma\delta$ T cells ; A right time and a right place for a conserved third way of protection. *Annu Rev*

- Immunol **18** : 975-1026, 2000.
- 63) Marc, Bonneville¹, Rebecca, L., O'Brien & Willi, K. Born.: $\gamma\delta$ T cell effector functions : a blend of innate programming and acquired plasticity. *Nat Rev Immunol.* **10** : 467-478, 2010.
- 64) Hayday, A.C, et. al.: Intraepithelial lymphocytes : exploring the third way in immunology. *Nat Immunol* **2** : 997-1003, 2001.
- 65) Carding, S.R., Egan, P.J.: $\gamma\delta$ T cells : Functional plasticity and heterogeneity. *Nat Rev Immunol* **2** : 336-345, 2002.
- 66) Cheroutre, H.: Starting at the beginning : new perspectives on the biology of mucosal T cells. *Annu Rev Immunol.* **22** : 217-246. 2004.
- 67) Montufar-Solis, D., Garza, T., Klein, J.R.: T-cell activation in the intestinal mucosa. *Immunol Rev.* **215** : 189-201, 2007.
- 68) Hayday, A., Tigelaar, R.: Immunoregulation in the tissues by gammadelta T cells. *Nat Rev Immunol.* **3** : 233-242, 2003.
- 69) Jameson, J., Havran, W.L.: Skin gammadelta T-cell functions in homeostasis and wound healing. *Immunol Rev.* **215** : 114-122, 2007.
- 70) Rocha B.: The extrathymic T-cell differentiation in the murine gut. *Immunol Rev.* **215** : 166-177, 2007.
- 71) Prince, A.L., Yin, C.C., Enos, M.E., Felices, M., Berg, L.J.: The Tec kinases Itk and Rlk regulate conventional versus innate T-cell development. *Immunol Rev.* **228** : 115-131, 2009.