

*Candida albicans* 培養液中の可溶性多糖画分 (CAWS) によって DBA/2 系マウスに  
惹起される血管炎の病理組織学的検討と致死毒性の解析

平田尚人,<sup>\*,a,c</sup> 石橋健一,<sup>c</sup> 太田 伸,<sup>a</sup> 羽田 悟,<sup>b</sup>  
篠原弘靖,<sup>c</sup> 喜多村美緒,<sup>c</sup> 三浦典子,<sup>c</sup> 大野尚仁<sup>c</sup>

**Histopathological Examination and Analysis of Mortality in DBA/2 Mouse  
Vasculitis Induced with CAWS, a Water-soluble Extracellular  
Polysaccharide Fraction Obtained from *Candida albicans***

Naoto HIRATA,<sup>\*,a,c</sup> Ken-ichi ISHIBASHI,<sup>c</sup> Shin OHTA,<sup>a</sup> Satoru HATA,<sup>b</sup>

Hiroyasu SHINOHARA,<sup>c</sup> Mio KITAMURA,<sup>c</sup> Noriko MIURA,<sup>c</sup> and Naohito OHNO<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Department of Pharmacy, <sup>b</sup>Department of Pathology, Nagano Red Cross Hospital, 5-22-1 Wakasato,  
Nagano 380-8582, Japan, and <sup>c</sup>Laboratory for Immunopharmacology of Microbial Products,  
School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Science,  
1432-1 Horinouchi, Hachioji City 192-0392, Japan

(Received March 6, 2006; Accepted May 6, 2006; Published online May 17, 2006)

CAWS, a water-soluble extracellular polysaccharide fraction obtained from the culture supernatant of *Candida albicans*, is one of the fungal pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). It has been reported to show potent activity inducing arteritis and coronaritis in mice. Especially, CAWS-induced arteritis has a 100% incidence and severe mortality in the DBA/2 mouse strain. This artificial vasculitis was reported to provide a good murine model of Kawasaki disease and other inflammatory vascular disease. However, severe mortality was observed only in DBA/2 mice, which is a CAWS-sensitive strain. In this study, to clarify the mechanisms of CAWS-induced arteritis and mortality, we investigated microscopic histopathological changes in cardiovascular tissues in DBA/2 mice. Severe inflammatory infiltration was observed from the external elastic lamina in the aorta and proximal coronary arteries within 1 week after CAWS administration. Severe stenosis of the aorta and coronary arteries was observed more than 3 weeks after CAWS administration. Fibrinoid necrosis was observed in these vessel walls. All CAWS-treated mice died between the fifth and twelfth week after administration. Severe inflammatory change with aortic valve transformation suggested that CAWS-treated mice died of valvular endocarditis or cardiac dysfunction. Based on the simple induction method and complete incidence, these data suggest that CAWS-induced arteritis is a good model of not only Kawasaki disease but also other cardiovascular diseases such as valvular endocarditis.

**Key words**—*Candida*; Kawasaki disease; arteritis; histopathological examination; mortality; animal model

## 目 的

虚血性心疾患や脳血管障害の原因となる動脈硬化は、動脈における血管内皮細胞の障害、活性化マクロファージの血管壁浸潤と酸化 low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c) の食食による泡沫化が要因と考えられている。<sup>1)</sup> 近年、動脈硬化を持続的な慢性炎症の終末像と捉え、<sup>2)</sup> 臨床においても high-sensitive C-Reactive Protein (hsCRP) といった炎症

マーカーを動脈硬化の指標とすることの有用性が報告されている。<sup>3)</sup> したがって、川崎病に代表される血管炎症性疾患の病態解明は、動脈硬化病変の原因究明にも役立つと考えられる。川崎病は幼少期に発症して全身の中小動脈に炎症性病変を形成する難治性疾患であり、経過中に約 30% の患者で冠動脈の拡大や冠動脈瘤を合併する。<sup>4)</sup> 1987 年に東邦大学医学部の直江らが川崎病患者の糞便中より分離した *Candida albicans*-derived substances (CADS) がマウスにおいて、川崎病に類似した冠状動脈炎を起こすことを報告した。<sup>5)</sup> さらに、その後の研究で類似物質の CAWS (*C. albicans* water-soluble fraction)

<sup>a</sup>長野赤十字病院薬剤部, <sup>b</sup>長野赤十字病院検査部, <sup>c</sup>東京薬科大学薬学部免疫学教室

\*e-mail: hirata@nagano-med.jrc.or.jp

には、DBA/2系マウスにおいて強い血管炎誘発作用と致死活性があることが判明した。<sup>6,7)</sup> これまでの報告で、CAWSによって惹起される血管炎(以下、CAWS血管炎)は川崎病や動脈の炎症性疾患の動物モデルとして、極めて有用と考えられている。<sup>8)</sup> しかし、血管炎の発症機構とDBA/2系マウスの死亡原因については不明な点が多い。本研究ではCAWS血管炎の病態解明のため、血管病変の形成部位を病理組織学的に評価し、血管炎の発症過程を詳細に解析することで、DBA/2系マウスの死亡原因について検討した。

## 方 法

**1. CAWSの調整法** *C. albicans* IFO 1385菌体を完全合成培地(C-limiting medium)中、pH 5.2の酸性条件下で培養を開始し、27°C、400 rpmの攪拌培養器中で5 l/分の通気下に培養した。得られた培養液のエタノール不溶かつ水溶性画分を分離し、既報に従いCAWSを得た。<sup>6)</sup> 本研究に使用したロットのCAWSは抗カンジダ因子血清との反応性、エンドトキシン含量、ベータグルカン含量、炭素・水素及び窒素の含有量、マウスへの静脈内投与における急性致死活性において、既報のCAWSと同等の活性、物性を示すことを確認した。

**2. マウス、病理組織学的観察、生存率の観察**  
4-5週齢のDBA/2系マウス(日本SLC株式会社)にCAWS 4 mg/mouseを5日間腹腔内に投与後、1週間毎にマウスを屠殺、肉眼的な臓器の形態変化を低倍率実体顕微鏡下で観察し、心臓組織切片の病理学的変化をHematoxylin and Eosin (HE)染色、及びElastica Van Gieson (EVG)染色法にて染色して顕微鏡下に観察した。4-5週齢のDBA/2系マウスにCAWS 1 mg/mouseを腹腔内に投与後1週目の脾臓重量と12週目までの生存率、及び体重変化を観察した。CAWS血管炎では250 µg/mouseの投与量まで同様の血管炎を100%形成することを確認しており、生存率の観察ではCAWS投与量を1 mg/mouseとした。なお、すべてのマウスは実験終了までspecific pathogen free (SPF)条件下で飼育し、実験動物の取り扱いは東京薬科大学実験動物取り扱い規約に従った。

**3. 統計学的処理** 脾臓重量、及び体重の推移については、未処置群とCAWS処置群間でstudent

t検定を行い、生存率に関してはそれぞれのマウス死亡の事象発生時点で未処置群とCAWS処置群間でWilcoxonの順位検定を実施した。

## 結 果

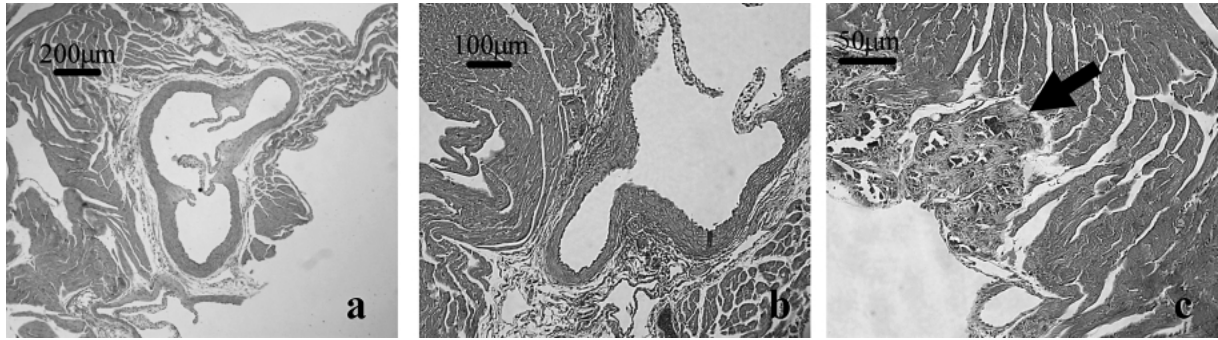
CAWS投与前のDBA/2マウスのバルサルバ洞付近における横断切片の組織像をFig. 1(a)に示した。この付近の切片では、大動脈起始部における内膜(血管内皮細胞)、中膜(血管平滑筋及び弾性板)、外膜と左心室の心筋組織、及び冠動脈開口部が大動脈組織に連続して観察される(Fig. 1(b))。また、DBA/2系マウスの特徴として心外膜に石灰化(Fig. 1(c))が高頻度に認められるが、<sup>9)</sup>動脈組織には石灰化像や炎症性細胞の浸潤は認められない。

CAWS投与開始後1週間目においては、バルサルバ洞から大動脈弁周囲にかけて炎症性細胞が外膜側から中膜弾性板へと浸潤する様子が観察された(Fig. 2(a))。炎症組織は多核白血球を主体とする細胞から構成されており、単球、組織球系細胞、リンパ球系細胞も認められた。内膜付近にも炎症性細胞が認められるため、内膜炎の存在は否定できないが、内皮細胞の剥離を示唆する血栓の形成が認められない。

2週目では大動脈弁弁輪を含む大動脈起始部、バルサルバ洞のうち、冠動脈を分岐する有冠洞を中心に外膜・中膜側から内膜側への炎症性変化が著しく進み、弾性板に沿って多核白血球を中心とする炎症性細胞の浸潤が観察された(Fig. 2(b))。炎症細胞の中には巨細胞も存在していた。特に観察後期では内膜炎も併発しているが、多核白血球は外膜よりも少なく、組織球様の細胞が多く認められ、血管内腔では少量の血栓形成が認められた。

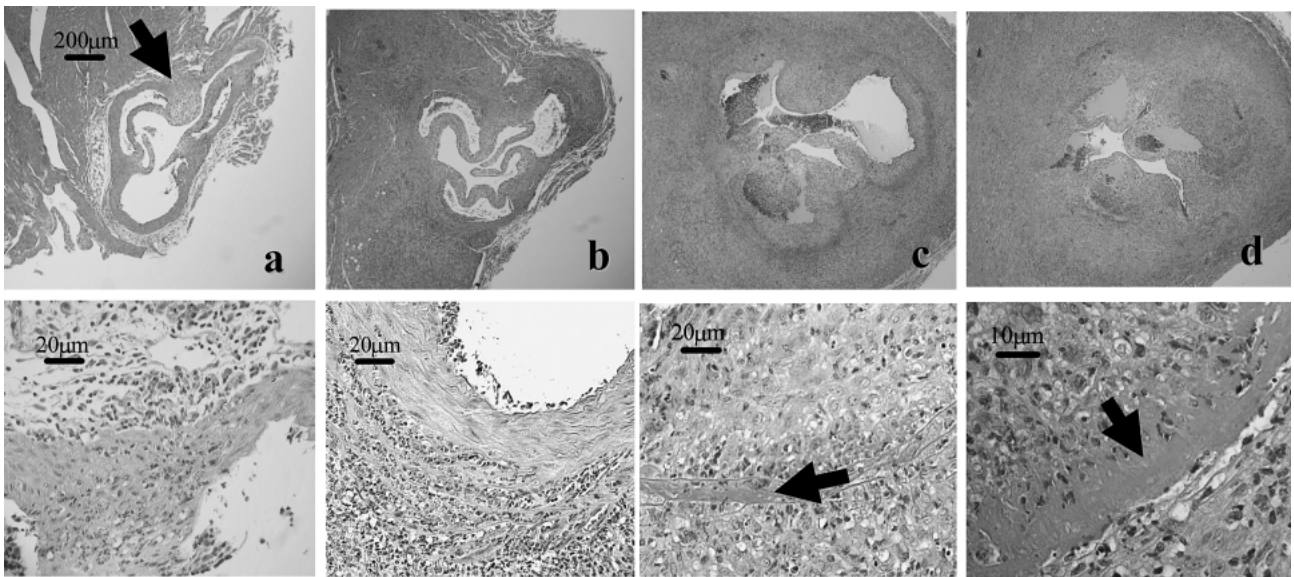
3週目以降は無冠洞を含めて全周性に著しく炎症性病変が拡大し、一部で膿瘍化も認められ(Fig. 2(c))、中膜弾性板にはフィブリノイド壊死が認められた。内膜・中膜弾性板・外膜といった血管としての基本構造が破壊され、内膜の著しい肥厚による大動脈起始部の高度な狭窄と大動脈弁組織の高度な変形を認めるほどの著しい血管病変を形成した(Fig. 2(d))。

4週目の病変部における低倍率実体顕微鏡像をFig. 3に示した。炎症性組織周辺は大動脈壁と弁組織の肥厚を伴う白色組織として観察された。



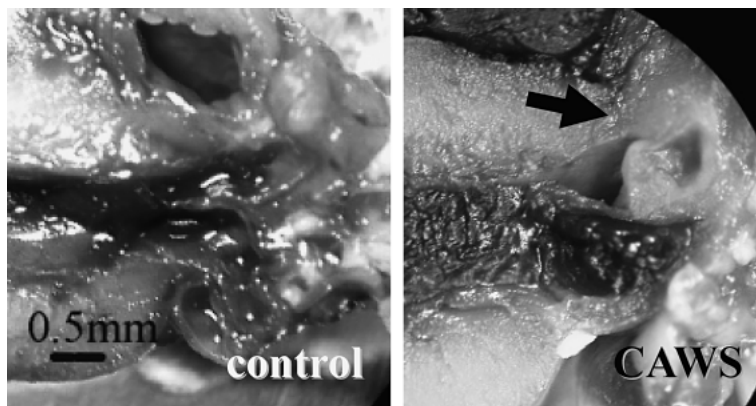
**Fig. 1. Histological Examination on Cardiovascular Tissue Feature of the Control (Untreated) DBA/2 Mice**

(a) low power view of aorta and aortic valve, (b) branched coronary artery from aorta with middle power view, (c) DBA mouse has calcification (arrow) in pericardium with high incidence. Tissues were stained by hematoxylin and eosin.



**Fig. 2. Time Course of Inflammatory Changes around the Aorta and Aortic Valves by CAWS Administration in DBA/2 Mice**

Upper pictures show aorta and aortic valve with low power view (same magnification). (a) Arrow shows affected infiltration to base of aortic valve at 1 week after CAWS administration. (b) Severe infiltration of leucocytes to aorta and coronary arteries was observed at 2 weeks. (c) At 3 weeks, severe inflammation was spread over all around aortic valve. (d) Advanced inflammatory changes and aortic valvular stenosis was observed at 4 weeks. Under pictures show each tissue with high magnification, arrows show the features of fibrinoid necrosis. These tissues were stained by hematoxylin and eosin.



**Fig. 3. Anatomical Observation for Inflammatory Alterations in Aorta and Aortic Valve**

Arrow shows inflammatory change with transformation and hypertrophy in aorta and around aortic valve.

4週目のEVG染色では大動脈と冠動脈起始部の中膜弾性板の構造を破壊して炎症性細胞が浸潤する様子が観察された (Fig. 4).

CAWS 1 mg/mouse 投与群では脾臓重量が有意に増加し、未処置群の成長曲線と比べ有意差はないものの、体重が変動する傾向があり (Fig. 5)、生存率の観察では5週目付近から死亡するマウスが出現し、12週までに100%が死亡した (Fig. 6). CAWS 投与群では死亡間際に突然の痙攣様発作を起こすマウスも認められた.

## 考 察

血管炎の病名と定義は、1994年のChapel Hill Consensus Conferenceで採択された分類がよく用いられる.<sup>10)</sup> それによれば、血管炎を病変部位により分類した場合、大動脈に代表される大血管に病変が認められるものとして、巨細胞性動脈炎 (側頭動脈炎) や高安動脈炎があり、各臓器や組織へ分岐する中小動脈に病変が認められるものとしては結節性多発動脈炎、川崎病、Wegener肉芽腫症、Churg-

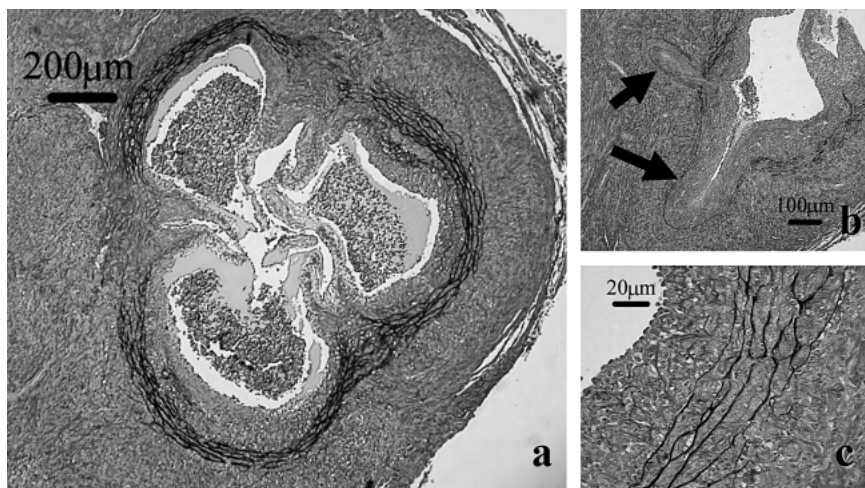


Fig. 4. Examination of Elastic Fibers of Aorta in CAWS-treated DBA/2 Mice by EVG (Elastica Van Gieson) Stain  
(a) The aortic tissue at 4 weeks after CAWS administration with low power view. (b) Middle power view for the area of coronary artery branching. Inflammatory changes with stenosis in coronary arteries (arrows). (c) Inflammatory infiltration for elastic lamina.

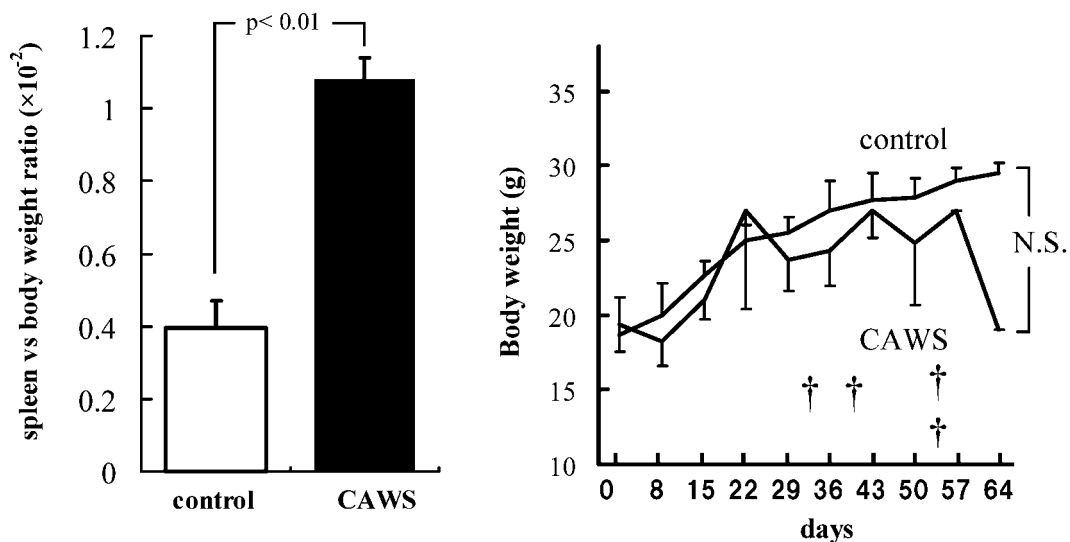


Fig. 5. Spleen Weight and Time Course of Body Weight with CAWS Treatment

DBA/2 mice were treated with/without CAWS at 1 mg/mouse for 5 consecutive days. The left panel shows spleen weight at 1 week after CAWS administration. The right panel shows time course of body weight. The results represent the mean S. D. †: died in CAWS-treated mice during the observation period, N. S.: No statistical significance difference.

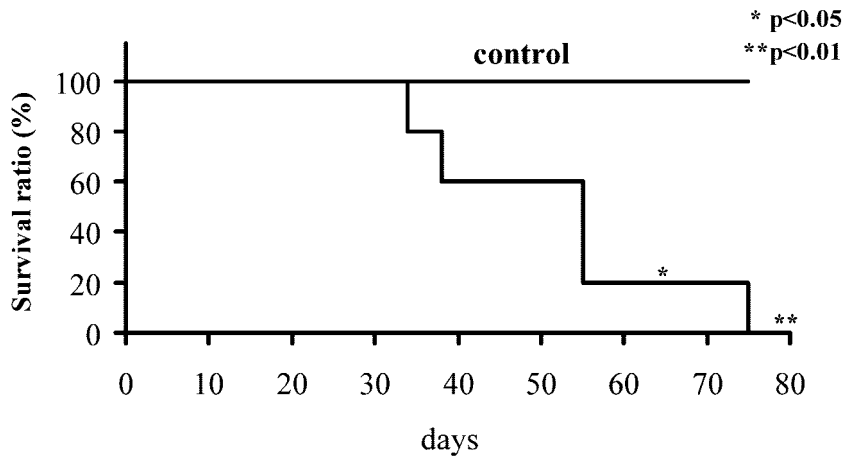


Fig. 6. Survival Ratio of CAWS-treated DBA/2 Mice

DBA/2 mice were treated with/without CAWS at 1 mg/mouse for 5 consecutive days. All mice were maintained under specific pathogen free condition during the observation period.

Table 1. Classification of Vasculitis Organised according to Predominant Size of Vessels Affected

Large artery	Medium sized artery	Small artery	Arteriole	Capillary
← Giant cell (temporal) arteritis →				
← Takayasu's arteritis →				
	← Polyarteritis nodosa →			
	← Kawasaki disease →			
	← Microscopic polyangiitis →			
	← Wegener's granulomatosis →			
	← Churg-Strauss syndrome →			
		← Henoch Schönlein purpura →		
		← Essential cryoglobulinaemic vasculitis →		
		← Antiglomerular basement membrane antibody mediated disease →		
← CAWS-induced vasculitis →				

(modified from Jennette et al., *Arthritis Rheum.*, 37, 187-192 (1994).)

Strauss 症候群が分類されている。毛細管の炎症としては Henoch Schönlein 紫斑病、過敏性血管炎等が挙げられており、障害される血管に応じて多彩な臨床症状を呈する。本研究で観察される CAWS 血管炎は、大動脈起始部と冠動脈近位部に炎症性病変を認めることから、病変の部位に関しては川崎病や高安病と共通点が認められる (Table 1)。

組織像としては CAWS 投与後 3 週目以降には中膜弾性板にフィブリノイド壊死と内膜肥厚を認め、全層性全周性の炎症病変拡大により基本的な血管構造が破壊されていることから、壊死性血管炎 (necrotizing vasculitis) に分類される。経時的には最初に外膜側への炎症性細胞の集積を認め、このとき内皮細胞の剥離や内膜障害を強く示唆する血栓がほとんど認められないことから、主に外膜側から発

症する血管炎と考えられる。炎症組織は大部分が多核白血球様の細胞で構成されており、外膜に集積した炎症性細胞は vasa vasorum (脈管栄養血管) から遊走・侵入し、中膜の弾性板に沿って浸潤して炎症性病変が拡大する様子が観察される。血管病変の動物モデルとして汎用される Apoprotein-E Knock-out (Apo-E KO) マウスにおける動脈硬化様の病変と比較すると、Apo-E KO マウスは脂質代謝異常に伴う血管内皮細胞 (内膜) の障害を期に病変が形成されるため、<sup>11)</sup> CAWS 血管炎と組織像や病変形成の過程が大きく異なると考えられる。

本研究では他の血管や他臓器病変の検索は十分に行われていないが、直江らの報告では類似物質の CADS によってもたらされる冠動脈炎において、大動脈起始部と冠動脈近位部の病変のほか、腎動

脈、リンパ節や肝に膿瘍化や壊死像が認められている。<sup>12)</sup> 著しい血管病変が主に大動脈起始部と冠動脈近位部に限局している原因については未解明で、ヒトの血管炎において抗大動脈抗体（内皮細胞反応性自己抗体）や、<sup>13)</sup> 抗好中球細胞質抗体（ANCA）の関与が示唆されていることから、<sup>14)</sup> CAWS と交差反応するような特定部位の自己抗原が存在しているのかも知れない。

近年、血管炎の原因として微生物感染や微生物抗原の関与を示唆する報告が多く、ANCA 陽性血管炎と細菌感染の関連、巨細胞性動脈炎とパルボウイルス B19、ヘルペスウイルス属の感染、川崎病とコロナウイルス属の New Haven-novel Human Coronavirus (HCoV-NH) 感染の関与を示唆する報告が多数存在する。<sup>15-17)</sup> 感染症における自然免疫の応答メカニズムの研究は急速に進んでおり、LPS に代表される微生物由来の免疫活性化物質は pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) と称されるようになった。PAMPs の作用発現に toll-like receptor (TLR) が重要な役割を担っていることが判明し、<sup>18,19)</sup> 川崎病患者の B 細胞表面には TLR ファミリーの 1 つと考えられる CD180 の発現が増加するとの報告や、<sup>20)</sup> *Lactobacillus casei* cell wall extract (LCCWE) 誘発マウス川崎病モデルにおいても TLR2 の関与を示唆する報告がある。<sup>21)</sup> PAMPs のシグナル伝達にはレクチン受容体も関係していて、真菌由来の代表的 PAMPs であるベータグルカンは Dectin-1 がレクチン受容体として知られる。<sup>22)</sup> 真菌マンナンの場合、補体レクチン経路の活性化で知られる mannose binding lectin (MBL) やマクロファージマンノースレセプターなどが受容体となる。事実、CAWS は強力にヒトの補体系をレクチン経路を介して活性化するため、CAWS の血管炎惹起活性の少なくとも一部はレクチン受容体を介して起きていると予測される（投稿準備中）。一方、CADS や CAWS と TLR の関与については現在のところ不明である。

CAWS 血管炎は脾腫を伴う炎症性応答であり、DBA/2 系マウス脾細胞を用いた *in vitro* の検討では、CAWS 刺激により炎症性サイトカインの産生が著しく増強されることが判明している。<sup>7)</sup> CAWS 血管炎の発症頻度と致死毒性、サイトカイン誘導能にはマウスの系統間で較差が認められ、<sup>23,24)</sup> ヒトに

おいては血管炎と HLA ハプロタイプとの関連を示唆する報告もあるが、<sup>25)</sup> CAWS 血管炎とマウスの H-2 ハプロタイプとの関連については十分に検討されていない。ただ、DBA/2 系マウスは高頻度に心外膜の石灰化を認める特徴があり、炎症組織の終末像として石灰化を形成することもあるため、DBA/2 系マウスが元来心血管系に炎症を起こしやすい系統である可能性は否定できない。

CAWS の基本構造は高分子マンナンとタンパク質にベータグルカンのユニットが結合した複合体であり、培養条件によって微細な構造変化が生じて生物活性が著しく変化する。<sup>6,8)</sup> 川崎病類似血管炎の動物モデルとしては、CAWS, CADS といった真菌由来物質のみでなく、細菌由来の LCCWE でも C57BL/6 系マウスで冠動脈炎を起こすことが報告されている。<sup>26)</sup> しかし、LCCWE で誘発される冠動脈炎は大動脈まで至る基本的な動脈構造の破壊やフィブリノイド壊死を伴うような激しい炎症は起こらないようである。さらに、LCCWE では血管炎の誘発は、投与群すべてに確実に惹起されるとはいえない傾向にある。一方、DBA/2 系マウスにおける CAWS 血管炎は 250  $\mu\text{g}/\text{mouse}$  から血管炎が認められ、用量依存的に血管炎が惹起できる。今回の 1 mg/mouse という投与量は、CAWS 血管炎の治療モデルとして各種治療法の生存率を観察する場合に、生存率の延長を効果判定の基準とするためには適当な観察期間で実験が可能であろうとの予測から設定した投与量であり、このように定量的に致死毒性がコントロール可能であるという点が、本モデルを前臨床試験に使用する上で最も優れた点であると言える。

本モデルでは DBA/2 系マウスにおいて CAWS 投与群の 100% に血管炎を誘発し、短期間で著しい血管病変をもたらした。CAWS 血管炎は単に大動脈病変に留まらず、高度の冠動脈起始部病変と大動脈弁に病変を伴っており、一部で肉眼的に心肥大を認めることがある。マウスの死因については、冠動脈閉塞に伴う虚血性心疾患、あるいは大動脈弁の病変によって大動脈弁狭窄や閉鎖不全に陥り、心機能不全を併発したか、リモデリングによる伝導系障害が致死的心室性不整脈を誘発して心停止した可能性が高いと考えられる。<sup>27)</sup> 心肥大の程度と心筋炎の合併については今回検討していないが、CAWS 投与

マウスで心臓超音波検査を実施したところ、有意な左室拡大と心機能低下が観察されている（投稿準備中）。現在、マウスの心不全モデルとして報告されているものに、外科的処置や遺伝子操作によるモデル<sup>28,29</sup> ジフテリアトキシン、コクサッキーウイルス B3, encephalomyocarditis virus (EMCV) による心筋炎モデルがあり、<sup>30</sup> CAWS 血管炎が DBA/2 系マウスの心機能を低下させることが確認できれば、心不全の動物モデルとしても利用できる可能性がある。さらに、ナトリウム利尿ペプチド、カテコラミン、エンドセリンといった液性因子の検討を行うことで、本モデルの病態が明らかになるものと考えられる。

CAWS 血管炎を誘発させる実験手技は簡便で、1 度に多くの固体で確実に血管炎を作ることができる。しかも、中長期的な観察で致死率が 100% であるため、生存率の延長をみることで、血管炎の治療薬、治療法の評価が可能と考えられる。CAWS 血管炎の研究発展は、難治性血管炎のメカニズム解明に役立つばかりでなく、心臓弁膜症や心不全といった循環器系疾患の優れた動物モデルとして、前臨床段階での利用価値を高めると考えられる。

#### REFERENCES

- Haw P. X., *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, **52**, 225-239 (2004).
- Paoletti R., Gotto Jr. A. M., Hajjar D. P., *Circulation*, **109**, III20-26 (2004).
- Clearfield M. B., *J. Am. Osteopath. Assoc.*, **105**, 409-416 (2005).
- Rowley A. H., Shulman S. T., *Clin. Microbiol. Rev.*, **11**, 405-414, (1998).
- Murata H., Naoe S., *Prog. Clin. Biol. Res.*, **250**, 523 (1987).
- Uchiyama M., Ohno N., Miura N. N., Adachi Y., Aizawa M. W., Tamura H., Tanaka S., Yadomae T., *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **24**, 411-420 (1999).
- Nagi-Miura N., Harada T., Shinohara H., Kurihara K., Adachi Y., Ishida-Okawara A., Oharaseki T., Takahashi K., Naoe S., Suzuki K., Ohno N., *Atherosclerosis* (available online).
- Ohno N., *Microbiol. Immunol.*, **47**, 479-490 (2003).
- Nabors C. E., Ball C. R., *Anat. Rec.*, **164**, 153-161 (1969).
- Jennette J. C., Falk R. J., Andrassy K., Bacon P. A., Churg J., Gross W. L., Hagen E. C., Hoffman G. S., Hunder G. G., Kallenberg C. G., McCluskey R. T., Sinico R. A., Rees A. J., van Es L. A., Waldherr R., Wiik A., *Arthritis Rheum.*, **37**, 187-192 (1994).
- Meir K. S., Leitersdorf E., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **24**, 1006-1014 (2004).
- Takahashi K., Oharaseki T., Wakayama M., Yokouchi Y., Naoe S., Murata H., *Inflamm. Res.*, **53**, 72-77 (2004).
- Dhingra R., Talwar K. K., Chopra P., Kumar R., *Int. J. Cardiol.*, **40**, 237-242 (1993).
- Wiik A., *Arthritis Res. Ther.*, **5**, 147-152 (2003).
- Tervaert J. W., Heeringa P., *Neth. J. Med.*, **61**, 404-407 (2003).
- Rodriguez-Pla A., Stone J. H., *Curr. Opin. Rheumatol.*, **18**, 39-47 (2006).
- Belay E. D., Erdman D. D., Anderson L. J., Peret T. C., Schrag S. J., Fields B. S., Burns J. C., Schonberger L. B., *J. Infect. Dis.*, **192**, 352-353 (2005).
- Xu D., Komai-Koma M., Liew F. Y., *Cell Immunol.*, **233**, 85-89 (2005).
- Reaves T. A., Chin A. C., Parkos C. A., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, **100**, 191-198 (2005).
- Imayoshi M., Yamamoto S., Watanabe M., Nishimura S., Tashiro K., Zaitzu M., Tasaki H., Kimoto M., Hamasaki Y., Ishii E., *J. Mol. Med.*, **31**, 1-7 (2005).
- Rosenkranz M. E., Schulte D. J., Agle L. M., Wong M. H., Zhang W., Ivashkiv L., Doherty T. M., Fishbein M. C., Lehman T. J., Michelsen K. S., Arditi M., *Circulation*, **112**, 2966-2973 (2005).
- Adachi Y., Ishii T., Ikeda Y., Hoshino A., Tamura H., Aketagawa J., Tanaka S., Ohno N., *Infect. Immun.*, **72**, 4159-4171 (2004).
- Nagi-Miura N., Shingo Y., Adachi Y., Ishida-Okawara A., Oharaseki T., Takahashi K., Naoe S., Suzuki K., Ohno N., *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, **26**, 527-543 (2004).
- Ohno N., *Jpn. J. Infect. Dis.*, **57**, S9-10 (2004).
- Griffith M. E., Pusey C. D., *Exp. Clin. Im-*

- munogenet.*, **14**, 196–205 (1997).
- 26) Duong T. T., Silverman E. D., Bissessar M. V., Yeung R. S., *Int. Immunol.*, **15**, 79–89 (2003).
- 27) Tomaselli G. F., Zipes D. P., *Circ. Res.*, **95**, 754–763 (2004).
- 28) Scheuermann-Freestone M., Freestone N. S., Langenickel T., Hohnel K., Dietz R., Willenbrock R., *Eur. J. Heart Fail.*, **3**, 535–543 (2001).
- 29) Bayat H., Swaney J. S., Ander A. N., Dalton N., Kennedy B. P., Hammond H. K., Roth D. M., *Basic Res. Cardiol.*, **97**, 206–213 (2002).
- 30) Shioi T., Matsumori A., Sasayama S., *Circulation*, **94**, 2930–2937 (1996).