

花粉症治療の選択法 (特集)EBM に基づく鼻アレルギー診療ガイドラインの活用と問題点を探る

増山敬祐

Progress in Medicine.23 巻 12 号 Page3174-3178(2003.12)

アレルギー性鼻炎と気管支喘息 "one airway,one disease"の考え方 (特集)気管支喘息治療の周辺トピックス

岡本美孝

臨床と薬物治療.22 巻 10 号 Page915-918(2003.10)

アレルギー疾患の診断と治療 アレルギー性鼻炎治療ガイドライン (特集)アレルギー診療 Update

岡本美孝

Medicina.41 巻 3 号 Page364-365(2004.03)

感染とアレルギー(総説)

岡本美孝

鼻アレルギーフロンティア.3 巻 4 号 Page20-24(2003.10)

感染症とアレルギー性鼻炎との関連 (特集)EBM に基づく鼻アレルギー診療ガイドラインの活用と問題点を探る

岡本美孝, 堀口茂俊, 櫻井大樹, 内田哲郎

Progress in Medicine.23 巻 12 号 Page3213-3216(2003.12)

Analysis of natural history of Japanese cedar pollinosis.

Okawa T, Konno A, Yamakoshi T, Numata T, Terada N, Shima M.

Int Arch Allergy Immunol. 2003 May;131(1):39-45.

厚生労働省科学研究費補助金(免疫・アレルギー研究事業)
研究報告書
花粉症の QOL による治療法の評価と新しい治療法の基礎的研究
スギ花粉症に対する舌下免疫療法に関する研究

分担研究者 後藤 穰 日本医科大学付属千葉北総病院耳鼻咽喉科 助手
大久保 公裕 日本医科大学付属病院耳鼻咽喉科 助教授

研究要旨

免疫療法は長期寛解や治癒を期待できる唯一の治療法である。しかし、現在の治療の位置づけを考えると決して第一選択ではない。これは、免疫療法によって起こりうる副作用（特にアナフィラキシーショック）が大きな足かせになっているものと考えられる。副作用を減らすためには、新しい投与方法や治療エキスの開発が急務である。その中で舌下免疫療法は、実用化できる可能性が最も高い治療戦略である。今回はスギ花粉症に対する舌下免疫療法の可能性を評価した。

A. 研究目的

スギ花粉症の有症率は、国民の約 13% に及ぶと言われている。I 型アレルギー疾患であるため、治療の基本はアレルゲンの除去・回避だが、現実的にはスギ花粉から完全に逃れることはできない。現在最も一般的な治療である薬物療は、対症療法に過ぎない。花粉症を治癒に導くと考えられている方法は、唯一免疫療法だけである (IT, Immunotherapy)。しかし現行の IT が一般的な治療にならない理由は、ショックを起こす危険性があることであり、このような IT の副作用を減少させるために、欧米では代替免疫療法が試みられている。特に舌下免疫療法 (SLIT, Sublingual Immunotherapy) は、二重盲検比較試験で有効性が証明されている。SLIT で大量の抗原を口腔粘膜から吸収させると、治療効果があり、副作用の危険性も極めて少ない。さらに、注射を必要としないので頻回の通院が不要である。将来 SLIT が日本でも実用化されれば、多くの花粉症患者が副作用もなく根治的治療を行うことが可能になる。

B. 方法

舌下免疫療法 (SLIT) についてインフォームドコンセントを得たスギ花粉症ボランティア 5 症例を対象とした。臨床的な検討については、日本医科大学倫理委員会の審議を得て行った。治療に使用した抗原エキスは、Hollister-Stier 社製の日本スギ花粉抗原 (1:20) を用いた。治療開始濃度は 1:50,000 とし、3 段階 10 倍希釈の増量法で行った。維持量として 1:500、20 滴を 1 週間 2 日投与した。これは従来の注射法で投与する維持量の約 20 倍に相当する。花粉飛散季節では最終的に 1 週間に 1 回の投与とした。

2003 年の花粉飛散季節中の症状について、SLIT

治療群 (n=5) と薬物療法群 (n=5) との比較を行った。薬物治療群は同時期に外来を受診した花粉症患者で、重症度には差がなかった。鼻症状の評価は、奥田の分類による鼻アレルギーの重症度の定義により症状点数 Symptom Score (SS) を算出し、花粉飛散季節中の推移を検討した。2003 年のスギ花粉飛散数は東京都健康局による千代田区のデータに基づいた。QOL の評価は、日本アレルギー性鼻炎 QOL 標準調査票 (2002 年度版) を使用した。

C. 結果

2003 年の東京都のスギ花粉飛散数は 3622 (個/cm²) で、平年並の飛散花粉数だった。スギ花粉飛散が多い 3 月後半から 4 月の症状を見ると、SLIT 群では症状の軽症化がすでに認められるが、薬物療法群では中等症以上の症状が遷延化していることが示された (図 1)。

治療による QOL の変化を比較すると、薬物療法群では、飛散数が増加すると QOL も悪化した。SLIT 群で QOL の変化が少なかった。つまり SLIT 群の QOL は、スギ花粉飛散中でも悪化しにくい傾向だった (図 2)。経過中、局所および全身性の副作用は発生しなかった。

D. 考察

IT は唯一の根治的治療法であるが、アナフィラキシーショックを起こす危険性があるので、一般医家には普及していない。重大な副作用を減らすために、ショックを起こさない治療エキスの開発や治療法の改良が必要である。海外では舌下ルート、点鼻ルートなどの投与方法の開発や、ペプチド療法の改良も進んでいるが、本邦ではこの分野の研究開発は進行していない。

今回の結果から、SLIT は季節中の症状の遷延化を

防ぐことによって、花粉飛散後期の症状を軽症化している傾向があった。そのため、花粉症患者はスギ花粉が多く飛散する時期でも QOL を悪化させることが少なく、シーズンを過ごすことが可能になると考えられる。

E. 結論

スギ花粉症の症状を抑制し、薬物の使用量を減少させられる SIT は医療経済上でも有用な方法である。SLIT の長期的な効果を評価し、多くの症例を検討することによって、作用メカニズムの解明や治療スケジュールの確立をしなければならない。対症療法である薬物療法に頼るのではなく SLIT を含めた IT によって患者を治癒に導くことが、これからのアレルギー治療の進むべき方向である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

- Sublingual immunotherapy for Japanese cedar pollinosis. (投稿中)

学会発表

- 第53回アレルギー学会総会 シンポジウム5「アレルギー性鼻炎に対する舌下免疫療法」
- 10th Congress of IRS/ 22nd ISIAN/ 26th Congress of KRS. Symposium 9 "Sublingual immunotherapy and nasal immunotherapy"

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

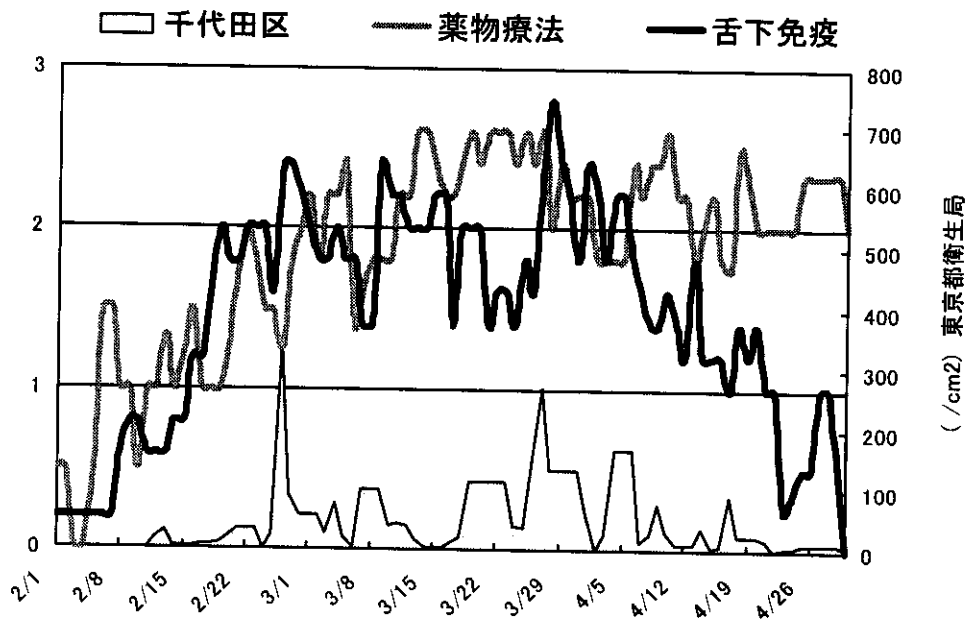


図1 スギ花粉症における舌下免疫療法の効果 (2003年)

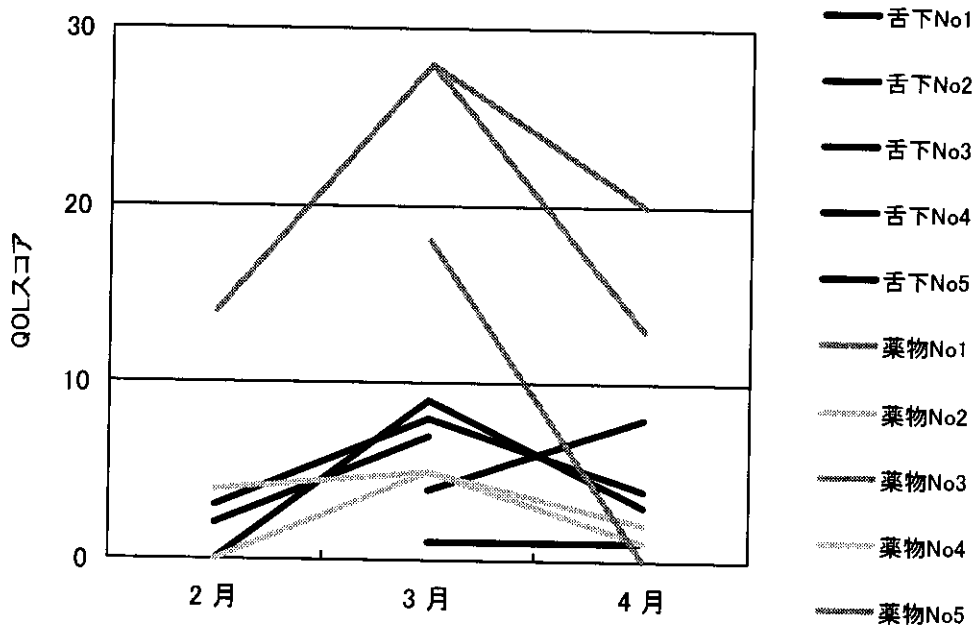


図2 舌下免疫療法によるQOLスコアの変化 (2003年)

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)
研究報告書

花粉症のQOLによる治療法の評価と新しい治療法の基礎的研究
口中錠を用いた舌下嚥下免疫療法に関する研究

分担研究者 吉田博一 獨協医科大学耳鼻咽喉科気管食道科講師
研究協力者 白坂邦隆 獨協医科大学耳鼻咽喉科気管食道科助手

研究要旨

近年、特異的免疫療法においては皮下注射以外の抗原投与方法が検討され、その中のひとつに舌下嚥下法がある。欧米におけるダニアレルギー患者や花粉症患者に対する舌下嚥下免疫療法の検討では、その効果と安全性について良好な結果を報告しているものが多い。今回我々は、スギ花粉症患者に対し、抗原濃度の異なる2種類のスギ花粉口中錠とプラセボ錠を用いて短期間の舌下嚥下免疫療法を施行し、その効果と安全性につき検討した。その結果、抗原投与が低用量の群においてスギ花粉飛散期の鼻症状スコアが最も強く抑制されていた。今後、抗原投与時の増量法や総投与量、治療期間、安全性をさらに検討することで、スギ花粉症に対して舌下嚥下免疫療法は有用な治療法となると考えられた。

A. 研究目的

鼻アレルギーに対する舌下嚥下免疫療法については海外では幾つかの報告があり、その有効性が示唆されている。我々は平成14年のスギ花粉飛散期にスギ花粉症患者に対しスギ花粉口中錠を用いた舌下嚥下免疫療法を行い、その有効性を野外曝露比較試験にて検討した。今回我々は平成15年のスギ花粉飛散期にスギ花粉口中錠またはプラセボ錠を投与し、鼻症状の推移につき比較検討した。

B. 研究方法

今回の研究に先立ち、昨年の試験で使用したスギ花粉口中錠(1倍錠=1錠あたりCry j1を37ng含有)と抗原量はその10倍のもの(10倍錠)さらにスギ花粉抗原を含有しないプラセボ錠の3種類の口中錠を用意した。対象はスギ花粉症患者ボランティア32名で、対象者を1倍口中錠群10名、10倍口中錠群12名、プラセボ錠群10名の3群に分けた。平成15年2月3日から4月6日まで毎日2回、口中錠を口腔内で自然溶解後嚥下する方法で投与した。アレルギー日記に記載された鼻症状の程度(くしゃみ、鼻汁、鼻閉)、日常生活の支障度、使用した薬剤をスコア化し3群間で比較検討した。また日記に記載された有害事象は治療との因果関係の有無に関わらず評価の対象

とした。さらに治療開始前、花粉飛散のピーク、治療終了後の計3回の採血で被験者血清中のスギ特異的IgE抗体値をCAP-RAST法で、スギ特異的IgG4抗体値をELISA法で測定し、各被験者についてIgE/IgG4をもとめ治療前後および3群間で比較した。期間中は毎日、当施設10階屋上にてダークラム型花粉捕集器でスギ花粉飛散数を測定した。

C. 研究結果

当施設におけるスギ花粉の飛散開始日は2月12日で観察期間中の飛散総数は4781個/cm²であった。また、1日の飛散数が300個/cm²を超える日を4日認めた。スギ花粉飛散開始前、飛散初期、その後の300個/cm²/dayの飛散を認めた期間計3回の合計5ピリオド(順にI~V)においてそれぞれ1週間ごとスコアの平均値をもとめ3群間で比較した。まず1倍口中錠群とプラセボ錠群とを比較すると症状スコアのうちくしゃみスコアはピリオドVで、鼻汁スコアについてはピリオドII、IV、Vにおいて1倍口中錠群で有意に抑制されていた。鼻閉スコアについてはそれぞれのピリオドにおいて両群間に有意差を認めなかった。日常生活の支障度とsymptom-medication score(SMS)はピリオドVにおいて1倍口中錠群で有意に低値であった。一方、10倍口中錠群とプラセボ錠

群との比較においては各パラメーターに両群間で有意差を認めなかった。患者血清中の IgE / IgG4 は、治療前後および3群間の比較で有意差を認めなかった。有害事象は11件報告され、プラセボ錠群で2件（咽頭異常感2件）、1倍錠群で2件（咽頭異常感1件、鼻症状増悪1件）、10倍錠群で7件（咽頭異常感2件、頭痛2件、消化器症状2件、喘息発作1件）であった。

D. 考察

1倍口中錠群とプラセボ錠群との比較において鼻症状スコア、SMSが1倍口中錠群で有意に抑制されていたことから、スギ花粉症に対しても舌下嚥下免疫療法が有効であることが示唆された。しかしながら10倍錠群ではプラセボ錠群と比較してスギ花粉飛散期の鼻症状スコアに有意差を認めなかった。今回の治療期間は過去の舌下嚥下免疫療法の報告と比較しても最も短期間のものであり、また効果を認めた1倍錠群の抗原の総投与量は少ないものである。舌下嚥下免疫療法に関する過去の検討では治療期間、抗原の総投与量は様々で文献によりかなりの差があり、少量の投与で症状を有意に抑制したとする報告もある。特異的免疫療法における抗原投与量については1回量、総量とも多い方が良いとする報告が多いが舌下嚥下免疫療法に限れば抗原投与量とその効果について比較検討した文献は少ない。今回10倍錠群で症状抑制効果が認められなかった理由としては治療開始時期、抗原の投与方法、使用した抗原の問題などが考えられるが、舌下嚥下免疫療法における抗原の至適投与量については今後のさらなる検討が必要である。さらに今回の検討では患者血清中のスギ特異的 IgE/IgG4 は治療前後で変化を認めなかった。舌下嚥下法においても注射法による特異的免疫療法と同様に Th2/Th1 バランスの変化や IgG4 をはじめとする中和抗体の変化を生じている可能性がある。この点についてはさらに長期間の舌下嚥下免疫療法を施行し検討する予定である。

E. 結論

スギ花粉症に対して舌下嚥下免疫療法が有効であることが示唆された。しかしながら抗原の投与量、増量法、治療期間については今後の検討が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

スギ花粉症口中錠を用いた舌下嚥下免疫療法では抗原投与量の多い群で有害事象がより多く発生する傾向を認めた。

G. 研究発表

1. 論文発表

盛川 宏、馬場廣太郎、白坂邦隆、浅賀英人、平山 裕、今野 渉、吉田博一：スギ花粉症に対する舌下・嚥下免疫療法の有用性—パイロット試験と野外曝露比較試験による検討—。耳鼻免疫アレルギー21(4)：33-38, 2003.

2. 学会発表

吉田博一：シンポジウム「アレルギー性鼻炎とアレルギー性結膜炎治療の現状と将来」スギ花粉症に対するペプチド療法の現状と将来展望。第53回日本アレルギー学会、2003。
白坂邦隆、盛川 宏、平山 裕、今野 渉、吉田博一、馬場廣太郎：スギ花粉症に対する舌下嚥下免疫療法の効果。第22回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)
研究報告書

花粉症の QOL による治療法の評価と新しい治療法の基礎的研究
プロスタグランジンをを用いた花粉症新規治療法の開発に関する研究

分担研究者 岡野光博 岡山大学大学院医歯学総合研究科 耳鼻咽喉・頭頸部外科講師

研究要旨

プロスタグランジン (PG) の抗原特異的な T 細胞応答への作用を通じて、花粉症に対する新規治療法の開発が可能か検討した。スギ花粉飛散期にスギ花粉症患者より末梢血単核細胞 (PBMC) を採取し、Cry j 1 (スギ花粉主要アレルゲン) あるいは PPD (結核菌抽出抗原) に特異的な T 細胞株 (TCL) を樹立した。PBMC あるいは TCL を抗原にて刺激する際に種々の濃度の PGD2 および PGE2 を添加し、増殖応答およびサイトカイン産生の変化を解析した。さらに PG の受容体を選択的なアゴニスト、アンタゴニストあるいは抗体を用いて受容体特異性を検討した。Cry j 1 特異的な T 細胞応答に対して、PGD2 の添加は IL-4 産生を亢進した。この作用は PPD 特異的な IFN- γ 産生ではみられず、また抗 CRTH2 抗体や CRTH2 アンタゴニストの添加で抑制されたことから、Th2 細胞に発現された CRTH2 を介していることが示唆された。一方、PGE2 は増殖応答とともに、Cry j 1 特異的な IL-4 (TCL)、IL-5 (PBMC) 産生および PPD 特異的な IFN- γ 産生を抑制した。受容体選択的なアゴニストを用いた検討で、その調節には EP2 および EP4 が選択的に関与していた。以上よりスギ花粉に特異的な T 細胞応答は PG により多彩な制御を受けていることが明らかとなった。抗原特異的な T 細胞機能を基盤とした花粉症治療の面からは、PGD2 の働きを抑制しかつ PGE2 の働きを亢進するような治療法の開発が新規治療法として有望である可能性が示唆された。

A 研究目的

アレルギー性鼻炎はアレルゲンに特異的な T 細胞、特に Th2 細胞によってその方向性が規定される。近年、肥満細胞などの免疫担当細胞から放出されるプロスタグランジン (PG) が T 細胞の活性化や機能に影響を与えるという報告がみられるようになった。しかしながら、多くの報告は PHA などのマイトジェン刺激あるいは抗 CD3/CD28 抗体などの抗原非特異的な刺激で T 細胞機能を解析している。そこで今回は、スギ花粉主要アレルゲン Cry j 1 に特異的な T 細胞応答へのプロスタグランジン (PGD2 および PGE2) の作用を解析し、これらの PG を利用した花粉症に対する新規治療法の開発が可能か検討した。さらにこれら T 細胞株の PGD2 および PGE2 受容体の発現について検討した。

B 方法

1. 末梢血単核細胞 (PBMC) および抗原特異的な T 細胞株 (TCL) の樹立
スギ花粉飛散期に花粉症患者から末梢血単核細胞 (PBMC) を採取した。PBMC は IL-2 存在下に抗原 (Cry j 1 あるいは PPD) にて反復刺激し、抗原特異的な T 細胞株 (TCL) を樹立した。
2. PGD2 の抗原特異的な T 細胞応答への作用
種々の濃度の PGD2 を添加し、PBMC および TCL

の抗原特異的な応答性 (増殖応答、サイトカイン産生) の変化を観察した。さらに抗 CRTH2 抗体あるいは CRTH2 アンタゴニストを投与し、受容体特異性を検討した。

3. PGE2 の抗原特異的な T 細胞応答への作用
種々の濃度の PGE2 を添加し、PBMC および TCL の抗原特異的な応答性 (増殖応答、サイトカイン産生) の変化を観察した。さらに PGE2 受容体 (EP1、EP2、EP3、EP4) に選択的なアゴニストを投与し、受容体特異性を検討した。

4. TCL の受容体発現
Cry j 1 および PPD 特異的な TCL における PGD2 受容体 (DP、CRTH2) および PGE2 受容体 (EP1-EP4) の発現を定量 RT-PCR にて解析した。

C 結果

1. PGD2 の抗原特異的な T 細胞応答への作用
Cry j 1 特異的な T 細胞応答に対して、PGD2 の添加は IL-4 産生を亢進した。この作用は PPD 特異的な T 細胞応答 (IFN- γ 産生) ではみられなかった。PGD2 による IL-4 産生亢進作用は抗 CRTH2 抗体の添加で抑制され、さらに CRTH2 アンタゴニストでも同様の抑制作用を認めた。
2. PGE2 の抗原特異的な T 細胞応答への作用
PGE2 の添加は Cry j 1 および PPD のいずれの

抗原特異的増殖応答、サイトカイン産生を濃度依存性に抑制した。受容体選択的アゴニストを用いた検討で、EP2 および EP4 受容体を投与した場合に抑制作用が顕著であった。

3. TCL の受容体発現

Cry j 1 特異的 TCL は PPD 特異的 TCL に比較して CRTH2 を有意に強く発現した。一方 EP1-EP4 の発現は 2 種の TCL で差を認めなかったが、ともに EP2 の発現が優位であり、EP1 の発現は殆ど認めなかった。

D 考察

PG の T 細胞機能への作用に関する報告は古くからみられるが、抗原、特にアレルゲンに特異的な T 細胞応答に関する検討は未だ十分ではない。今回の検討からは、PGD2 は Cry j 1 に特異的な IL-4 産生を増強させる作用を有し、これは Cry j 1 特異的 T 細胞に優位に発現される CRTH2 を介している可能性が示唆された。また PGD2 は PPD 特異的な IFN- γ 産生には影響を示さなかったが、受容体発現の解析結果から PPD 特異的 T 細胞に CRTH2 の発現が弱いことがその一因である可能性が考えられた。

PGD2 は鼻粘膜誘発を行うと即時相で鼻汁中に認められるメディエーターである。また鼻粘膜に PGD2 を添加するとくしゃみや鼻漏を伴わない鼻閉が誘導されることが知られている。今回の結果からは、PGD2 による鼻閉の誘導の一因としてアレルゲン特異的 T 細胞の活性化を介している可能性が考えられた。さらに最近の報告では PGD2 合成酵素を過剰発現したトランスジェニックマウスでは局所への好酸球浸潤と Th2 型サイトカイン産生が亢進することが知られている。PGD2 が Th2 型サイトカイン産生を促進的に制御することはヒトおよびマウスで共通する可能性が示唆された。また PGE2 は Th1 サイトカイン産生を抑制し、Th2 分化に関わるとの報告がみられる。その一方で、PGE2 は刺激の種類によっては IL-5 産生を抑制することが知られている。今回の検討からは、すでに分化したメモリー T 細胞においては PGE2 は Th1 細胞、Th2 細胞のいずれも抗原特異的な応答（増殖応答、サイトカイン産生）を濃度依存性に抑制することが明らかとなった。さらに受容体特異性を検討するとこの作用は EP2 および EP4 を主に介していることが示唆された。EP2 および EP4 はいずれもアデニレートサイクラーゼを活性化し、細胞内 cAMP 濃度を上昇させることにより生理活

性を示す G タンパク結合型受容体である。従って、抗原特異的 T 細胞応答の抑制作用は細胞内 cAMP 濃度上昇を介していることが示唆された。

E 結論

PG は特異的 T 細胞応答に対して、個々の PG が特徴をもった制御機構を有している。PG の特性を十分に理解し利用することで、アレルゲン特異的な T 細胞機能を抑制し、花粉症の治療を行うことが期待された。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

1. 論文発表

岡野光博、小川晃弘、西崎和則、江口直美、裏出良博：プロスタグランジン D2-CRTH2 を介する鼻アレルギー応答の解析。日鼻誌 42 (1)：40-41, 2003.

2. 学会発表

岡野光博：PGE2 によるサイトカイン産生の制御。第 42 回日本鼻科学会（パネルディスカッション II；鼻アレルギーとサイトカイン）、2003.

岡野光博、菅田裕士：プロスタグランジンによるアレルギー性鼻炎の制御と治療の可能性。第 53 回日本アレルギー学会（シンポジウム 6；アレルギー性鼻炎とアレルギー性結膜炎治療の現況と将来）、2003.

岡野光博、菅田裕士：プロスタグランジン E2 (PGE2) によるアレルゲン特異的 T 細胞応答の制御。第 53 回日本アレルギー学会、2003.

菅田裕士、岡野光博：鼻粘膜におけるプロスタグランジン D2 合成酵素の発現とその局在。第 53 回日本アレルギー学会、2003.

岡野光博：メディエーターによる抗原特異的 T 細胞応答の制御と鼻アレルギー治療への展望。

第 22 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会（シンポジウム；免疫応答の制御による治療戦略）、2004.

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- なし
- 2. 実用新案登録
 - なし
- 3. その他
 - なし

第2章

アレルギー性鼻炎の病理・病態生理

感作のメカニズム

要言

アレルギー性鼻炎における感作とは、吸入性アレルゲンに対する Th2 型の免疫応答が成立し、その結果産生されたアレルゲン特異的な IgE が肥満細胞表面の Fcε 受容体に結合することを示す。Th2 分化、さらに IgE 産生に至るプロセスには遺伝的素因に代表される宿主固有の因子と環境因子および抗原自身の感作活性などの宿主外因子が複雑に関与する。21 世紀は予防医学の時代とも言われ、アレルギー性鼻炎に関しても感作の予防が重要な課題となろう。

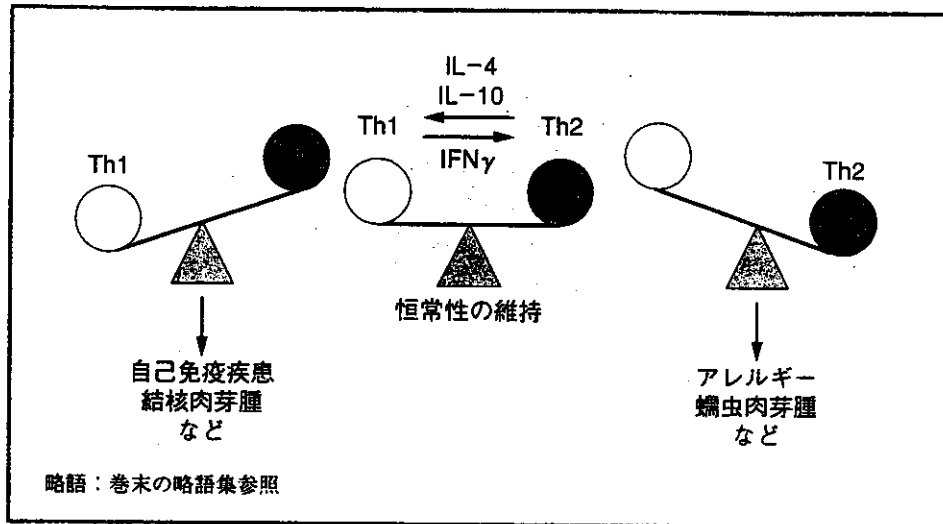
Th1 / Th2 細胞

CD4 陽性ヘルパー T 細胞は、産生するサイトカインにより、主に Th1 と Th2 細胞に分類できる。生体防御が病原体との攻防の所産であることを考えれば、これらの細胞分化は非常に合目的である。すなわち、Th1 細胞は IL-2, IFN γ などを産生して細胞内に寄生する病原体 (intracellular pathogens: 結核, 原虫, ウイルスなど) の排除に働き、一方、Th2 細胞は IL-4, IL-5, IL-13 などを産生して、細胞外に寄生する病原体 (回虫, 吸虫など) の排除に関与する。さらに Th1 細胞と Th2 細胞は産生するサイトカインによって互いに抑制しあい、バランスを取りながら免疫応答を調節し、恒常性を維持している¹⁾。例えば、Th1 細胞から産生される IFN γ は Th2 細胞の分化・活性化を抑制し、さらに IgE 産生も抑制する。その一方で、このバランスが崩れると自己免疫疾患やアレルギーなどの免疫疾患を引き起す (図 1)。すなわちアレルギー性鼻炎における感作とは、このバランスが崩れ、吸入性アレルゲンに対する Th2 細胞の分化・活性化が優位になって起るものである。事実、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜をアレルゲンで誘発し健常人の場合と比較すると、24 時間後に

● キーワード

感作
IgE
素因
環境
感作活性

図1 Th1/Th2 バランスと疾病

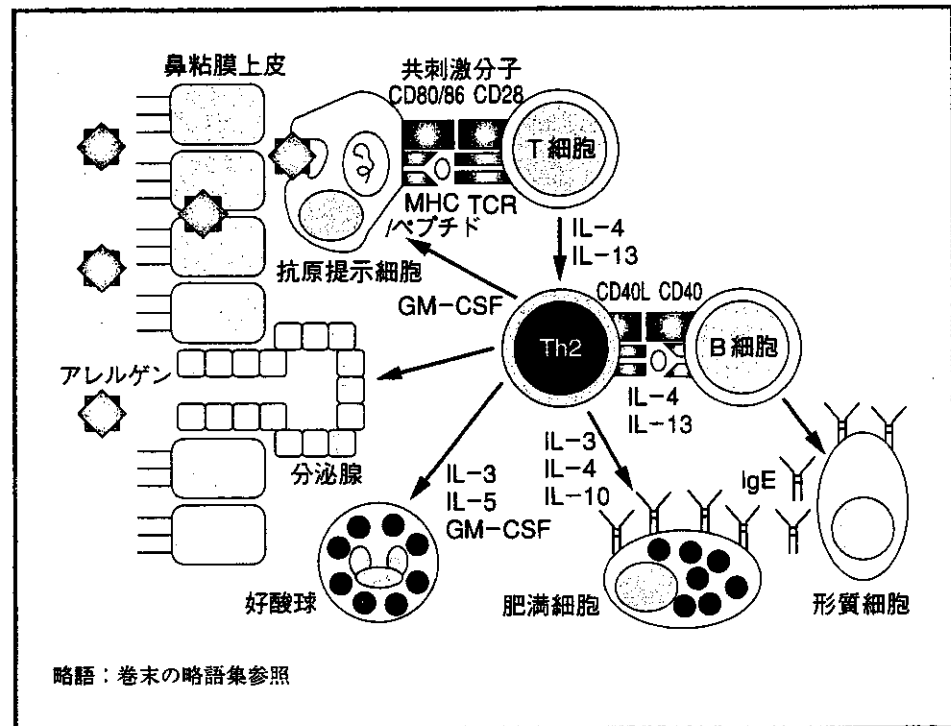


IL-4, IL-5 シグナルの増加を認め、一方 IFN γ シグナルは変化しない²⁾。

アレルギー性鼻炎感作のメカニズム

吸入されたアレルゲンは多くの場合 30 μm 以上の粒径を持つために鼻腔内で捕捉される。鼻腔粘液中で花粉から溶出したアレルゲンは、鼻粘膜上皮の細胞間隙を通過して上皮下に分布する Langerhans 細胞のような樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞 (APC) に貪食される。APC 内でアレルゲンはプロセッシングを受け、アミノ酸 10 数個から成る抗原ペプチド (T細胞エピトープ) となり、HLA クラス II 分子と結合し、細胞表面に抗原提示される。この抗原情報を、ヘルパー T 細胞は共刺激分子とともに T 細胞受容体を介して認識する。ヘルパー T 細胞は主に IL-4 の存在下で CD28 の共刺激シグナルを介して Th2 細胞に分化する。IL-4 はナイーブ T 細胞の Th2 分化を誘導するのみならず、B 細胞を活性化し IgE 産生形質細胞へのクラススイッチを促進させる。また、IL-4 は血管内皮細胞上の VCAM-1 (好酸球に発現し好中球には発現されない接着分子 VLA-4 のリガンド) 発現を亢進させたり、粘液産生にも関与するなど多彩な作用を有している。Th2 細胞は IL-4, IL-5 などのサイトカインを分泌し、また CD40L などの共刺激分子を発現する。これらのシグナルによって B 細胞は活性化し、最終的に IgE を産生する形質細胞に分化する。また IL-5 は好酸球に働き、活性化や生存率の

図2 感作のメカニズム



延長を介して鼻粘膜内への好酸球浸潤を誘導する（図2）。さらに、Th2細胞は杯細胞化生を促進し、粘液産生にも関与する。IgE産生は主に所属リンパ節で起るが、鼻粘膜内でも起りうることが知られている。

アレルギー性鼻炎感作に関する因子

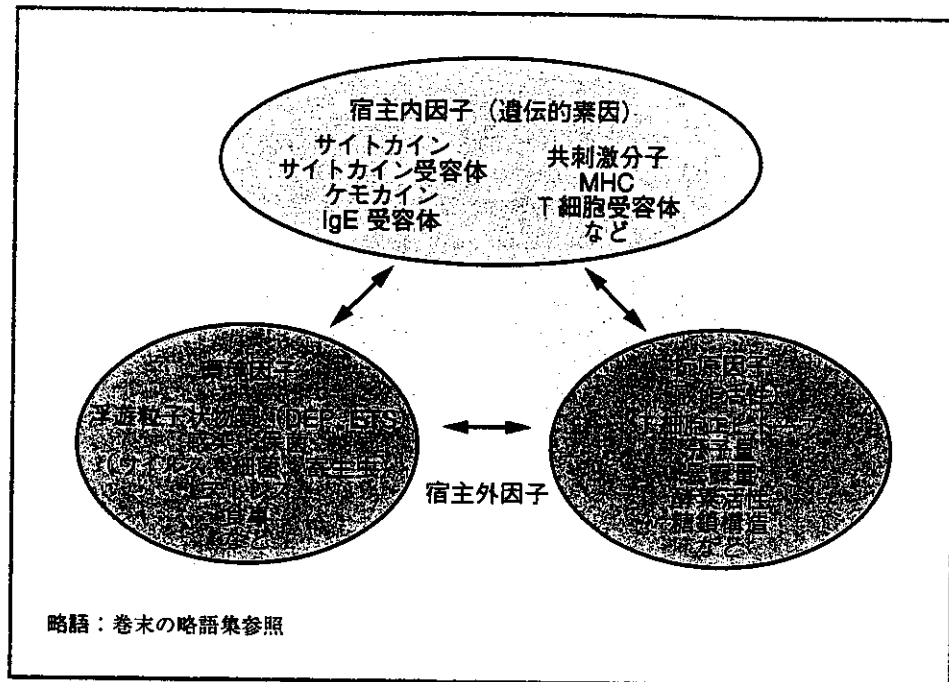
感作の成立には、大別して宿主内因子と宿主外因子が関与している。宿主内因子は遺伝的素因と密接にかかわっている。また宿主外因子としては、環境因子と抗原自身の性質（感作活性：sensitizing potential）が共に重要である。すなわち、感作しやすい物質、感作しやすい環境、感作しやすい体質が感作に影響を与える（図3）。以下に感作に影響を与える代表的な因子を概説する。

宿主内因子

1. 遺伝的素因

アレルギー性鼻炎の感作には遺伝的背景が関与している。IgE産生を指標にしたスギ花粉症患者の家系調査において、スギ花粉に対する感受性は単純劣性の、また抵抗性は単純優性の遺伝形式を示し、

図3 感作成立に関与する因子



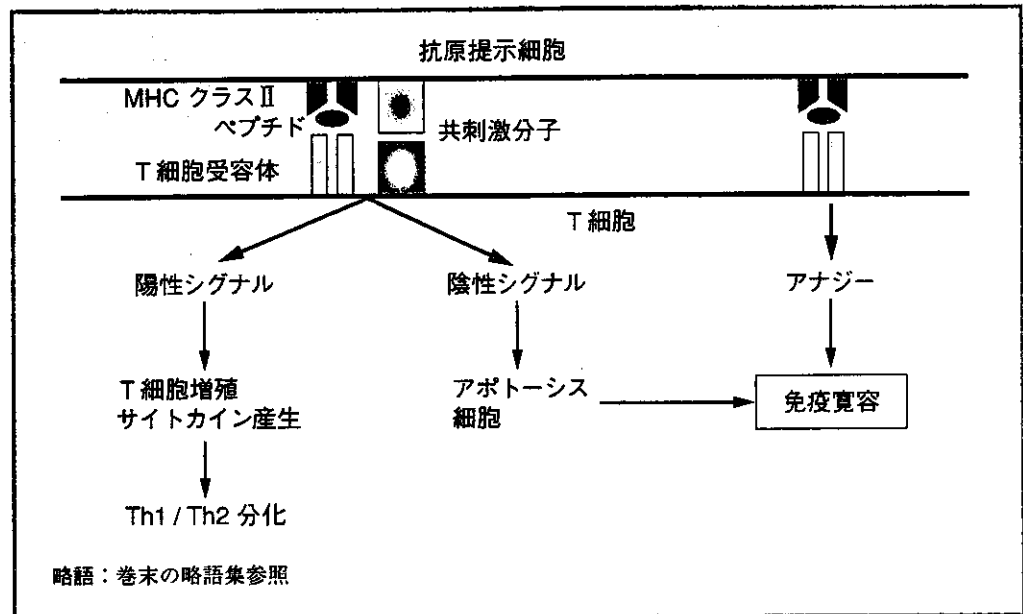
HLA-DQw3 との関連性が指摘されている³⁾。マウスアレルギー性鼻炎モデルにおいても同様であり、特定の抗原に対して特定の MHC を発現した系統 (strain) のみが応答性を示し感作が成立する⁴⁾⁵⁾。また双生児を対象とした調査からは、ダニなどの室内アレルゲンに比較して、花粉に対する感作には遺伝的素因がより関与することが示されている⁶⁾。

一方、気管支喘息を中心にアトピー遺伝子のマッピングおよび同定が進んでいる。喘息においては第 11 染色体、第 5 染色体などに連鎖が見いだされている⁷⁾。第 11 染色体には高親和性 IgE 受容体 (FcεRI) 遺伝子が存在し、また第 5 染色体には IL-4, IL-5, IL-13 などのサイトカイン遺伝子群 (IL-4 gene cluster) が存在しており、これらが喘息遺伝子の候補となっている。しかしながら、連鎖は人種間での差異が著しいうえ、現時点では花粉症における寄与度の高い花粉症遺伝子となりうる有力な候補はいまだ報告されておらず、本邦集団での本疾患に対するゲノム解析が望まれる。

2. 共刺激シグナル

前述のように CD4 陽性 T 細胞は APC からの抗原提示を受け活性化する。この際二つのシグナルが必要である。第 1 のシグナルは T 細胞受容体と MHC-ペプチド複合体との結合によるシグナルである。第 2 のシグナルは共刺激分子を介したものである。共刺激シグナルの

図4 共刺激分子による免疫応答の制御



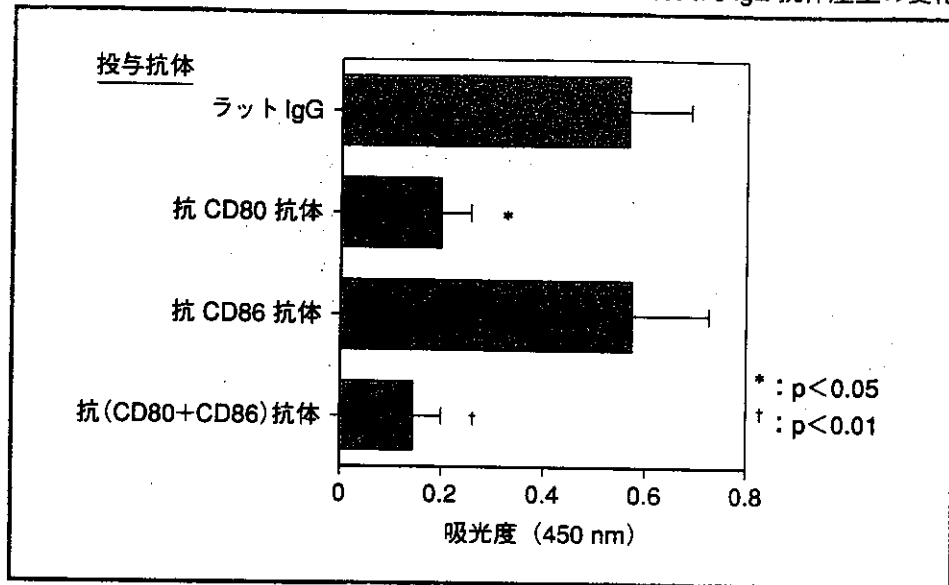
欠如した抗原提示はT細胞からのIL-2産生を不能にし、アナジーに陥らせる(図4)。共刺激シグナルにはB7(CD80/CD86)-CD28やOX40L-OX40のようにT細胞活性化を促進するシグナルと、B7(CD80/CD86)-CTLA4に示される抑制性のシグナル、あるいはFas-FasLに代表されるアポトーシス誘導性シグナルに大別できる。

これらの共刺激分子のうち、Th2細胞の分化および活性化にはB7(CD80/CD86)-CD28/CTLA4を介した共刺激シグナルが重要でかつ解析が進んでいる。マウスモデルを用いた検討からは、感作時に抗CD80抗体を投与することにより、抗原特異的IgE産生、鼻粘膜内好酸球浸潤、および鼻粘膜リンパ球のIL-4・IL-5産生は抑制され、一方、抗CD86抗体投与では変化を認めなかった⁸⁾。これらの結果は、Th2細胞の活性化とそれに伴うIgE産生にB7(CD80/CD86)を介したシグナルが重要であることを示している(図5)。

3. サイトカイン

アレルギー性鼻炎の感作に中心的に関与するサイトカインはIL-4である。IL-4はTh2細胞の分化に必須であるだけでなく、B細胞の活性化を促しIgE産生を促進する。遺伝的にIL-4を欠損したIL-4ノックアウトマウスを用いた点鼻感作実験において、IL-4ノックアウトマウスは抗原特異的IgEを産生しなかった。しかしながら、鼻粘膜内好酸球浸潤や鼻粘膜リンパ球のIL-5、IL-10産生

図5 CD80/CD86 ブロッキング抗体の投与による抗原特異的 IgE 抗体産生の変化



は野生型マウスと同等に見られた。以上の結果は、鼻炎の感作に IL-4 は必須であるが、好酸球性炎症の成立には IL-4 は必ずしも必要ではないことを示唆している⁹¹。

4. 性ホルモン

アレルゲンの中にはその感作に性差を認めるものがある。4歳の小児を対象にした場合、ネコに対する感作は女兒に有意に高く、逆にブタクサに対する感作は男児に有意に高いとの報告がある¹⁰¹。我々は、ハチ毒アレルゲンであるホスフォリパーゼ A₂ (PLA₂) を CBA/J マウスに点鼻感作すると IgE 産生に性差を認め、雌マウスは雄マウスに比較して感作されやすいことを観察した。さらに、去勢した雄マウスでは IgE 産生が促進され、これはテストステロンの補充により再び抑制された。つまり本マウスモデルでは、男性ホルモンは IgE 産生に抑制的に作用している¹¹¹。

環境因子

1. 浮遊粒子状物質 (SPM)

大気中を浮遊する化学物質および粒子状物質の気道粘膜および吸入アレルゲンへの影響が指摘されている。古くは高濃度の二酸化イオウ暴露による IgE 産生促進作用などが知られているが、現在花粉症の感作と最も関連が疑われている大気中化学物質はディーゼル排気粒子 (DEP) である。DEP が直径 2 μm 以下の SPM の主要成分であるこ

とや、スギ花粉症とディーゼル車の増加パターンが類似していることなどが、その背景にある。DEP はスギ花粉に付着することが知られており、花粉自体の抗原性を高めている可能性が指摘されている。DEP には IgE 産生を誘導するアジュバント活性がある。マウスにスギ花粉を単独で感作した場合は特異的 IgE 産生は見られないが、DEP とともにスギ花粉を投与すると、IgE 産生が誘導される¹⁰⁾。ヒトにおいても同様の作用があり、さらに未暴露の抗原に対する新たな感作を誘導することが報告されている¹²⁾。また DEP は気道粘膜上皮細胞に働き、転写因子 NF- κ B の活性化を介して IL-8, GM-CSF などのサイトカインの産生を誘導することが知られている。

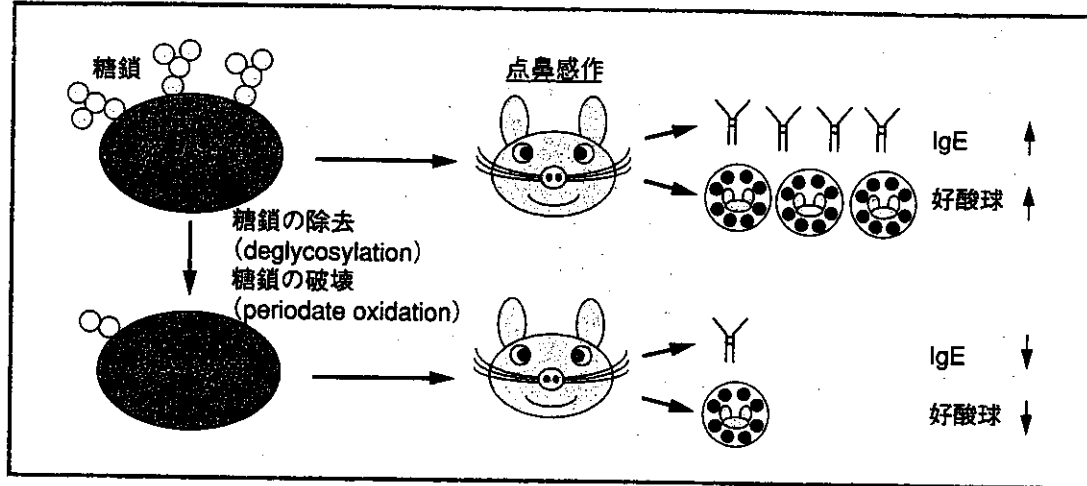
その他、SPM の中でアレルギー感作との関連が疑われているものにタバコ流煙 (ETS) がある。ETS には DEP と同様に IgE 産生を誘導するアジュバント作用があり、マウスにおいて ETS の吸入が IL-4, IL-10 産生を介して IgE 産生を増強することが知られている¹³⁾。しかしながら、メタアナリシスなどを用いた疫学調査では、ETS の花粉症感作への直接的な関与は現在のところ否定的である¹⁴⁾。

2. 感 染

前述した Th1 / Th2 バランス理論から、Th1 あるいは Th2 を誘導する感染、あるいはその菌体成分が感作に影響を与えることが明らかとなった。例えば、結核は代表的な Th1 型の感染症であるが、ツベルクリン反応の程度と血清総 IgE 量は有意に逆相関する¹⁵⁾。あるいは、麻疹や A 型肝炎といったウイルス感染が感作の抑制因子となることが疫学的に報告されている¹⁶⁾ Th1 を誘導する代表的な感染は結核である。一方、ワクチン (BCG) のアレルギー感作抑制作用に関しては議論が分かれている。結核菌の菌体成分の一つは精製ツベルクリンタンパク質 (PPD) であるが、我々がマウスを用いた実験からは PPD にも感作抑制作用があることが明らかとなった。すなわち、PPD をあらかじめ点鼻投与したマウスは、その後行ったアレルゲン点鼻感作に対して、無処理マウスに比較して特異的 IgE 産生・鼻粘膜内好酸球浸潤が有意に抑制された¹⁷⁾。

一方、回虫や吸虫などの Th2 型感染のアレルギー感作への影響は、相反する報告がなされている。本邦では最近、南九州での疫学調査でブタ回虫の感染者は非感染者に比較してスギ花粉の感作率が約 2 倍高

図6 糖鎖の感作活性



いと報告が見られた¹⁸⁾。蠕虫感染によって体内環境が Th2 へシフトすることにより、新たに暴露された抗原が IL-4 の存在下で抗原特異的 Th2 応答を誘導することは矛盾しないであろう。

3. 経胎盤感作

妊娠中、母胎環境は Th2 にシフトすることが明らかとなりつつある。これは母体から同種異系体 (アロ) である胎児を排除しないための防御機構であると考えられている。したがって、胎生期に経胎盤的に抗原暴露することにより、Th2 型の免疫偏向が誘導され、感作が成立しやすい可能性が示唆されている。事実、臍帯血リンパ球は花粉を含むアレルゲンに対して増殖反応を示し、Th2 サイトカインのシグナル発現が誘導されることが報告されている¹⁹⁾。

抗原因子 (感作活性)

1. 酵素活性

多くのアレルゲンは酵素そのもの、あるいは酵素活性を有する。例えばスギ花粉の主要アレルゲン Cry j1 はペクチン分解酵素活性を有する。アレルゲンの中には酵素活性が感作に影響を及ぼすものがある。例えばハチ毒アレルゲン PLA₂ では、酵素活性がない PLA₂ は天然型 PLA₂ に比較して腹腔感作による IgE 産生が有意に低下する。

2. 抗原内糖鎖

近年、免疫系に対して抗原・アレルゲンを構成する糖鎖が多様な作用を示すことが知られている。我々は、マウスモデルを用いて感作へ

の抗原内糖鎖の関与を検討している。マンスン住血吸虫卵抗原 (SEA) は強力な Th2 誘導抗原であり、ラクト-N-フコペンタオース III (LNF III) などのオリゴ糖を含有している。SEA 内の糖鎖を破壊してマウスに点鼻感作すると、天然型抗原による場合に比較して、特異的 IgE 産生、鼻粘膜内好酸球浸潤、鼻粘膜リンパ球の IL-4、IL-5 産生は有意に抑制された²⁰⁾。つまり、SEA を構成する糖鎖は、感作活性を有することが明らかとなった。さらにこの感作活性は、LNF III によるものであることを明らかとした²¹⁾。同様に、グルカン、キチン、マンナンなどの多糖を豊富に含むアスペルギルス抗原においても、構成する糖鎖が感作活性を有していた (図 6)²²⁾。しかしながら、PLA₂ の場合は、天然型抗原も脱糖処理した抗原も同様の IgE 産生を誘導し、PLA₂ を構成する糖鎖には感作活性が認められなかった²³⁾。これらの結果は、抗原を構成する糖鎖の感作活性は、糖鎖構造、多価性、ペプチドとの結合様式、ペプチド部分の抗原性などにより規定される可能性を示唆する。

岡野 光博

文 献

- 1) Mosmann TR, et al: The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 17: 138-146, 1996.
- 2) Durham SR, et al: Cytokine messenger RNA expression for IL-3, IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in the nasal mucosa after local allergen provocation: Relationship to tissue eosinophilia. *J Immunol* 148: 2390-2394, 1992.
- 3) Sasazuki T, et al: HLA-linked genes controlling the immune response and disease susceptibility. *Immunol Rev* 70: 51-75, 1983.
- 4) Okano M, et al: Involvement of carbohydrate on phospholipase A₂ a bee venom, in in vivo antigen-specific IgE synthesis in mice. *Allergy* 54: 811-818, 1999.
- 5) Okano M, et al: Strain-dependent induction of allergic rhinitis without adjuvant in mice. *Allergy* 54: 593-601, 1999.
- 6) Duffy DL, et al: Genetic and environmental risk factors for asthma: a cotwin-control study. *Am J Resp Ctil Care Med* 157: 840-845, 1998.
- 7) Xu J, et al: Genomewide screen and identification of gene-gene interactions for asthma-susceptibility loci in three U.S. populations: collaborative study on the genetics of asthma. *Am J Hum Genet* 68: 1437-1446, 2001.
- 8) Okano M, et al: Differential role of CD80 and CD86 molecules in the induction and the effector phases of allergic rhinitis in mice. *Am*

- J Resp Crit Care Med 164: 1501-1507, 2001.
- 9) Okano M, et al: Interleukin-4 independent production of Th2 cytokines by nasal lymphocytes and nasal eosinophilia in murine allergic rhinitis. *Allergy* 55: 723-731, 2000.
 - 10) Johnson C C, et al: Gender differences in total and allergen-specific immunoglobulin E (IgE) concentrations in a population-based cohort from birth to age four years. *Am J Epidemiol* 147: 1145-1152, 1998.
 - 11) Yamamoto T, et al: Gender-related differences in the initiation of allergic rhinitis in mice. *Allergy* 56: 525-531, 2001.
 - 12) Muranaka M, et al: Adjuvant activity of diesel-exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *J Allergy Clin Immunol* 77: 616-623, 1986.
 - 13) Saxon A, et al: Diesel exhaust as a model xenobiotic in allergic inflammation. *Immunopharmacology* 48: 325-327, 2000.
 - 14) Seymour B W P, et al: Second-hand smoke is an adjuvant for T helper-2 responses in a murine model of allergy. *J Immunol* 159: 6169-6175, 1997.
 - 15) Shirakawa T, et al: The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 275: 77-79, 1997.
 - 16) Shaheen S O, et al: Measles and atopy in Guinea-Bissau. *Lancet* 347: 1792-1796, 1996.
 - 17) Hattori H, et al: Intranasal application of purified protein derivative (PPD) suppresses the initiation but not the exacerbation of allergic rhinitis in mice. *Clin Exp Allergy* 32: 951-958, 2002.
 - 18) 渡辺直毅: 寄生虫とアレルギー. *アレルギー免疫* 7: 482-486, 2000.
 - 19) Prescott S L, et al: Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T cell responses toward the Th2 cytokine profile. *J Immunol* 160: 4730-4737, 1998.
 - 20) Okano M, et al: Induction of Th2 responses and IgE is largely due to carbohydrates functioning as adjuvants on *Schistosoma mansoni* egg antigen. *J Immunol* 163: 6712-6717, 1999.
 - 21) Okano M, et al: Lacto-N-fucopentaose III found on *Schistosoma mansoni* egg antigen functions as adjuvant for proteins by inducing Th2-type responses. *J Immunol* 167: 442-450, 2001.
 - 22) Yamashita Y, et al: Carbohydrate expressed on *Aspergillus fumigatus* induce in vivo allergic Th2-type response. *Clin Exp Allergy* 32: 776-782, 2002.
 - 23) Okano M, et al: Involvement of carbohydrate on phospholipase A2, a bee venom, in in vivo antigen-specific IgE synthesis in mice. *Allergy* 54: 811-818, 1999.

厚生労働科学研究費補助金(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)
研究報告書
花粉症の QOL による治療法の評価と新しい治療法の基礎的研究
dsRNA (polyI:C) 刺激による線維芽細胞からの RANTES 産生についての検討

分担研究者 藤枝重治 福井大医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教授

研究要旨

鼻粘膜において構成細胞である線維芽細胞を中心に、多種多様のサイトカイン・ケモカインが産生され、増殖・分化などさまざまな機能が営まれている。とりわけウイルスや細菌感染において、線維芽細胞や粘膜上皮細胞は、防御の点のみならず、産生されるサイトカイン・ケモカインによって、アレルギー性鼻炎の病態に深く関与している可能性がある。そこで今回は、dsRNA のケモカインの産生における役割とそのシグナルを検討した。その結果、鼻由来線維芽細胞において dsRNA 刺激で IL-8、RANTES の著明な産生亢進を認めた。その産生シグナルとしては、PI3 kinase が重要であった。今後 IL-8、RANTES の細胞遊走能以外の機能解析、PI3 kinase 選択抑制を目的とした方法を検討していきたい。

A 研究目的

以前に比べ慢性副鼻腔炎が減少し、アレルギー性鼻炎が増加した。この現象に異論をとる耳鼻咽喉科医はいない。ヒトの体は、細菌やウイルスに感染したり、ワクチンなどで擬似感染状態を起こすと、それらに対する抗体を作り、今後感染しないように身を守る。それとは別に、細菌に含まれる DNA 特有の受け手や、ウイルスに対する特有の受け手がヒトの免疫担当細胞には存在し、感染時その受け手を介した活性化にて、インターフェロンガンマー (IFN- γ) を代表とするいろいろな物質が産生され、感染を治そうとする。これが自然免疫である。IFN- γ には IgE 産生を抑え、アレルギー反応とは逆の方向に働く作用がある。この細菌に含まれる DNA (CpG-DNA) やウイルス RNA (dsRNA) を用いてアレルギー反応を抑えられないかと考えた。

これまでの研究からは、CpG-DNA がヒト B 細胞からの IgE 産生を IFN- γ を一部介して、有意に抑制できることが判明した。そこで今回は、dsRNA を用いて IgE 産生とは異なり、ケモカインの産生にいかに関与を及ぼすかを検討した。

B 方法

下鼻甲介手術時に採取したアレルギー性鼻炎患者下鼻甲介粘膜から、線維芽細胞を分離し用いた。すべての実験は、文書で患者の同意のもと行われた。分離培養した線維芽細胞を poly(I:C) にて刺激し、炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α)、ケモカイン (IL-8、RANTES、Eotaxin) の産生を ELISA キットにて測定した。さらに、ケモカイン

産生の細胞内シグナル伝達について、各種特異的阻害薬を用いて、ケモカイン産生にどのような影響を及ぼすかを検討した。

C 結果

鼻由来線維芽細胞を poly(I:C) で刺激すると、炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α) の産生は認めなかったが、報告されている気管上皮細胞同様 IL-8、RANTES の著明な産生亢進を認めた。RANTES 産生は、IFN- γ の添加にて有意に亢進した。IL-4 の刺激は、RANTES に影響を及ぼさなかった。

一方、Eotaxin の産生は、poly(I:C) 単独刺激では、産生誘導はされず、IL-4 の刺激を加えると poly(I:C) の相乗効果を認めた。しかし IL-4 との相乗効果を認める poly(I:C) 濃度は、RANTES 産生の時に比べ低濃度であった。

炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α) の産生が認められなかったことから、炎症性サイトカインを介した、autocrine 的なものではなく、dsRNA 刺激により直接 IL-8、RANTES の著明な産生亢進が導かれたと考えられた。しかし鼻由来線維芽細胞には、RANTES や Eotaxin のリガンドである CCR3 の発現を認め、RANTES 刺激によっては CCR3 の発現の増強と増殖の亢進を認めた。

特異的阻害薬を用いた検討では、poly(I:C) 刺激による RANTES 産生は、SP600125 (JNK 阻害薬) と LY294002 (PI3 kinase 阻害薬) で有意に抑制され、poly(I:C) 刺激による IL-8 産生は、SB203580 (p38 阻害薬) にて著しく抑制され、SP600125 と LY294002 にて有意に抑制された。