

#### D 考察

RANTES は、Eotaxin と並ぶ好酸球遊走因子であり、好酸球性炎症の成因の一翼を担っている。今回 poly(I:C) の刺激により、RANTES 産生の著明な産生亢進を認めたことにより、ウイルス感染による鼻腔の好酸球性炎症(特に好酸球性鼻茸)の増悪に Eotaxin よりも RANTES 産生が重要な役割を果たしていることが判明した。

dsRNA の濃度から、ウイルス感染が軽度の時は、アレルギー患者において鼻粘膜の環境が Th2 にシフトしているため、Eotaxin 産生を亢進し、より好酸球浸潤が強くなり、アレルギー症状は亢進する。重度のウイルス感染の場合、RANTES 産生が亢進する。RANTES にも好酸球遊走を認めるが、本来 IFN- $\gamma$  刺激によって誘導される Th1 タイプのケモカインであるため、Eotaxin とは異なった作用(アレルギー抑制作用)があるのではないかと推測している。

さらに RANTES 産生の細胞内シグナル伝達について検討したところ、poly(I:C) 刺激では、JNK と PI3 キナーゼが RANTES 産生に、p38MAPK が IL-8 産生に重要な役割を果たし、JNK と PI3 キナーゼもある程度関与していることがわかった。我々はこれまで Ras の変異株を用いた実験から、RANTES 産生において Ras12V40C での PI3 kinase 経路が重要であることを証明してきており、今回の結果も PI3 kinase 経路が重要であった。

#### E 結論

鼻由来線維芽細胞は、RNA ウイルス感染による炎症惹起において、RANTES、IL-8 を産生し、炎症細胞の遊走を促進することで、重要な役割を果たしていると考えられた。

好酸球遊走因子産生の代表的シグナルは、PI3 kinase 経路であった。今後、PI3 kinase の阻害を主とした方向で、治療法開発を行いたいと考えている。

#### F 健康危険情報

なし

#### G 研究発表

##### 1. 論文発表

藤枝重治、野中隆三郎、伊藤聡久、都築秀明、呉明美、竹中洋：鼻粘膜における抗原認識の臓器特異性と IgE 抗体産生。治療学 37:11-15, 2003,1.

藤枝重治：CpG-DNA-抗体療法。アレルギー・免疫 10:316-326, 2003.2

藤枝重治、山田武千代、高橋昇、木村有一、山本英之、小島章弘、五井孝憲、山口明夫：鼻線維芽細胞におけるケモカイン産生と増殖シグナルについて。日鼻誌 42:1-7, 2003,4.

藤枝重治、高橋昇、山本英之、小島章弘、山田武千代：内分泌攪乱物質による IgE 産生・ケモカイン産生への影響。アレルギー科 16:138-143, 2003,2.

藤枝重治：アレルギー性鼻炎の発症・増悪と生活習慣の影響。Prog Med 23:2324-2325, 2003,10.

藤枝重治：アレルギー性鼻炎の将来的な治療。Prog Med 23:2567-2568, 2003,11.

##### 2. 学会発表

藤枝重治：線維芽細胞における RANTES・Eotaxin 産生シグナルについて 第2回アレルギー細胞ネットワーク研究会 2003,7.

高橋 昇, 藤枝重治, 山田武千代：dsRNA(polyI:C) 刺激による鼻線維芽細胞からの RANTES 産生についての検討。第53回日本アレルギー学会, 2003,10.

高橋 昇, 藤枝重治, 山田武千代：dsRNA(polyI:C) 刺激による鼻線維芽細胞からの RANTES 産生についての検討。第42回日本鼻科学会, 2003,10.

#### 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

#### スギ花粉症患者の抗原特異的 T 細胞に関する研究

分担研究者 増山敬祐 山梨大学大学院医学工学総合研究部耳鼻咽喉科教授

#### 研究要旨

I 型アレルギー疾患においては、Th2 サイトカインの産生が亢進し、アレルギー炎症の増悪に関与していることが指摘されている。しかしながら、これまで未培養のリンパ球から直接抗原特異的 Th1/Th2 サイトカイン産生 T 細胞を検討した報告は少ない。我々は、スギ花粉症患者の未培養末梢血抗原特異的な T 細胞の Th1/Th2 サイトカインバランスについて検討し、Th2 優位であることまた抗原非特異的な T 細胞反応は Th1 優位であることを示した。

#### A 研究目的

スギ花粉症などのアレルギー性疾患においては、Th1/Th2 サイトカインのアンバランスが認められ結果として Th2 へシフトしているとの報告がある。しかしながら、必ずしも Th1/Th2 のバランスのみで解決できない事象があることも近年指摘されている。その理由のひとつとして、抗原特異的な Th1/Th2 サイトカインのバランスをみていない可能性もあると考えられる。そこで、我々は未培養の患者末梢血における抗原特異的な Th1/Th2 サイトカイン産生 T 細胞の割合を検出するシステムを確立した。この方法を用いて、スギ花粉症患者の抗原特異的および抗原非特異的な Th1/Th2 サイトカインバランスについて検討したので報告する。

#### B 方法

スギ花粉症患者より末梢血を採取し、比重遠沈法にて単核球層を分離した。6 穴プレートにて分離した細胞を 3 時間培養した。付着細胞と浮遊細胞を分離し、付着細胞より樹状細胞を誘導した。浮遊細胞は -80℃ に保存した。付着細胞を 6 穴プレートにて GM-CSF、IL-4 存在下で 1 週間培養後、標準化スギ抗原 (Cry j 1, 2) と浮遊細胞を入れて overnight で培養した。IL-4、IFN- $\gamma$  ELISPOT ASSAY KIT を用いてスポットを染色し、それぞれ Th2, Th1 サイトカイン産生細胞数として電算画像処理にてカウントを行った。一方、非特異的な Th1/Th2 細胞の割合は、以下のごとく行った。スギ花粉症患者より末梢血を採取し、比重遠沈法にて単核球層を分離後、Ionomycin, PMA, monensin と 4 時間培養した。細胞を固定し穴開け処理を行った後、IL-4/IFN- $\gamma$  CD4 に

て染色し FACS にて解析した。

#### C 結果

##### 1) 樹状細胞について

今回検討に用いた IL-4 と GM-CSF で誘導した樹状細胞の特徴は、HLA-DR 分子の発現を認めたが、CD86、CD83 の発現を認めなかった。

##### 2) 抗原特異的および抗原非特異的 Th1/Th2 サイトカイン産生細胞の割合

樹状細胞のみ、リンパ球のみ、スギ抗原のみのプレートにおいてはサイトカインスポットの発現は認めなかった。また、樹状細胞とリンパ球を入れたプレートにおいてもほとんどスポットは認められなかった。樹状細胞+リンパ球+スギ抗原のプレートにおいてのみ、明らかなサイトカインスポットの産生が確認できた (図)。実際のサイトカイン産生細胞数は、IL-4 においては細胞 10 万個あたり 50-80 個であった。一方、IFN- $\gamma$  産生細胞数は細胞 10 万個あたり数個にとどまった。このスポット産生細胞の陽性率は CD8 陽性細胞除去操作では変化を認めず、CD4 陽性細胞の除去により抑制された。スギ花粉症患者 4 症例について、抗原特異的 Th1/Th2 サイトカイン産生細胞の比をみると、Th1/Th2=0.0125, 0.046, 0.046, 0.000 といずれの症例においても Th2 優位であった。これとは対照的に、非特異的 Th1/Th2 サイトカイン産生細胞の比は、それぞれ 5.13, 6.52, 4.06, 8.53 といずれも Th1 優位であった。

#### D 考察

アレルギー疾患における Th1/Th2 バランスについては、抗原特異的な未培養の T 細胞の反応をみ

ることの有用性が示された。また、スギ花粉症では明らかに抗原特異的な Th1/Th2 バランスは Th2 にシフトしていることが確認できた。この抗原特異的なサイトカインのエリスロット測定系を用いることにより、花粉非飛散期における抗原誘発による Th1/Th2 サイトカインバランスあるいは花粉飛散期における Th1/Th2 サイトカインバランスの変動を観察することが可能である。つまり、生体内に抗原刺激が入った時の Th 細胞の反応性の変化を詳細に解析できる。今後、スギ花粉に感作されているが未発症の症例での検討、さらに免疫療法の有効症例での Th1/Th2 サイトカインバランスを解析することにより、免疫療法的作用機序の解明に貢献できる可能性がある。しかしながら、この系では樹状細胞から IFN- $\gamma$  産生が起こる可能性があり、Th1 サイトカイン産生細胞数に影響を及ぼすことが予想される。今後は、スギ抗原 T 細胞エピトープを用いた測定系も併せて検討する予定である。さらに、調節性 T 細胞が産生する IL-10 のエリスロット系を確立し、Th1/Th2 サイトカインバランス系以外の調節機構の解明にも役立てていきたい。

#### E 結論

未培養末梢血を用いた抗原特異的な Th1/Th2 サイトカイン産生 T 細胞の同定法を確立した。今後この系を用いて、免疫療法が有効な症例での Th1/Th2 バランスに与える効果あるいは花粉症自然寛解症例での Th1/Th2 バランスの変化を解析することで、より有効な新しい免疫療法の開発につなげていきたいと考えている。

#### F 健康危険情報

なし

#### G 研究発表

##### 1. 論文発表

石川 哮、宗 信夫、増山敬祐：アレルギー性鼻炎 QOL 調査票の開発 第 2 編 通年性アレルギー性鼻炎を対象とした QOL 調査. アレルギー 52 (補冊) : 57-69, 2003.

増山敬祐：通年性アレルギー性鼻炎の病態とそれに基づく薬物療法. 山梨医科学誌 18(3), 37-45, 2003.

増山敬祐：研修ノート スギ・ヒノキ花粉症の薬物治療のコツ. 耳鼻臨床 96: 12;

1110-1111, 2003.

増山敬祐：第 4 章 アレルギーの病態に関する最近の知見 4. 上気道とアレルギー. 先端医療シリーズ 19 アレルギー・リウマチ・膠原病 アレルギー・リウマチ・膠原病の最新医療、狩野庄吾、中川武正編集主幹、先端医療技術研究所、東京、2003、pp.137-142

##### 2. 学会発表

松岡伴和、堀口茂俊、松崎全成、高橋吾郎、岡本美孝、増山敬祐：鼻アレルギー患者の抗原特異的 Th1/Th2 サイトカイン産生細胞の検討. 第 42 回日本鼻科学会総会、2003

松岡伴和、松崎全成、遠藤周一郎、高橋吾郎、堀口茂俊、岡本美孝、増山敬祐：鼻アレルギーに対する Th1 サイトカイン誘導の効果. 第 53 回日本アレルギー学会 [イブニングシンポジウム 9 アレルギー治療における Th2 細胞の制御]、2003.

#### H 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

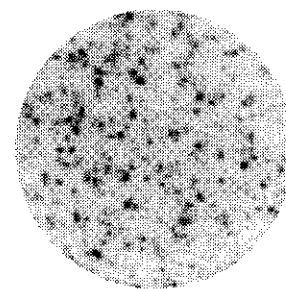
##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

図



樹状細胞+リンパ球+スギ抗原のプレート  
(スギ特異的 IL-4 産生 T 細胞)

分担研究者：岡本 美孝 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学教授

研究協力者：大川 徹 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学講師

堀口 茂俊 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学講師

## 研究要旨

スギ花粉症に対する有効な新治療開発のため、スギ花粉症の自然史の検討、スギ花粉抗原特異的 T 細胞の解析、鼻粘膜での局所粘膜免疫応答機構の検討を行った。同一住民集団の縦断的スギ花粉症に関する疫学調査から、加齢によるスギ花粉特異的 IgE の低下は、60 歳代までは明らかではないこと、感作を受けている住民のスギ花粉症の有症率は、50 歳代までは加齢と共に増加し 60 歳代でも横ばいであること、自然寛解の頻度は中高年でも高くないことから、今後益々スギ花粉症の増加が中高年者でもみられる可能性が高い。一方、頻度は少ないが高いスギ特異的 IgE 抗体を保有する患者でも自然寛解がみられることから、自然寛解の機序も含めた詳細な検討が根本治療の開発に向けて非常に重要と考えられる。抗原特異的 Th1、Th2、Tr 細胞の直接解析が可能となり、今後、発症、寛解、および免疫治療の機序の研究に有用な情報を提供すると考えられる。

## A. 研究目的

- (1) 地域一般住民のアレルギー性鼻炎の横断的のみならず縦断的調査により、同一住民集団でのスギ花粉症の感作率、有症率、自然寛解の実態とその特徴を明らかにしてスギ花粉症の病態に迫る。
- (2) スギ花粉抗原に対する特異的 T 細胞の subpopulation を直接計測することで、発症、自然寛解、あるいは免疫療法はじめ各種治療が、Th1/Th2 サイトカインのアンバランスが病態の根底にあるとされるスギ花粉症患者への影響を明らかにする。
- (3) ヒト鼻粘膜から侵入した抗原の抗原呈示部位、特徴を明らかにすることで、スギ花粉に対する鼻粘膜を中心とした局所粘膜免疫応答機構を明らかにする。

以上の研究により、スギ花粉症に対する根本的治療法の開発研究の発展への基礎を作る。

## B. 研究方法

- (1) 2003 年 6 月に千葉県安房郡丸山町において、問診、鼻内診察、血清中抗原特異的 IgE 検査によるアレルギー性鼻炎の住民の検診を行い、1995 年以降、これまでの 9 年間の調査データと比較、検討を行

った。

- (2) ダニ、スギ花粉粗抗原、及びそれぞれの抗原ペプチドを用いて、ELISPOT 法による抗原特異的 T helper1 (Th1)、T helper2 (Th2) 細胞および regulatory T (Tr) 細胞の検出を行った。
- (3) 頭頸部癌患者治療の一環として、インジウムで標識した患者末梢血樹状細胞を患者鼻粘膜内、あるいは口蓋扁桃内に投与し、その後の標識 DC の移動について single photon emission tomography (SPECT) を用いて解析を行った。

(倫理面への配慮)

住民検査、スギ花粉症患者からの採血とその T 細胞の解析、頭頸部腫瘍患者への樹状細胞の投与とその後の SPECT による解析にあたっては、住民、患者から文書による同意書を得、また大学の倫理委員会の許可を得て行った。

## C. 研究結果

- (1) アレルギー性鼻炎の住民検診から、中高年者の横断的調査では加齢になる程、スギ花粉に対する感作率、有症率、スギ花粉特異的 RAST 値は低下した。しかし、年齢階層別の同一グループで経過を追った縦断的調査では、スギ花粉 RAST 値は、40 歳代、50 歳

代ではその年の花粉飛散の影響を受けて飛散量に応じた年次変動が認められたが、9年間に加齢と共に単純に減少傾向を認めることはなかった。60歳代では、花粉飛散量による変動は少なくほぼ横ばいであった。逆に、スギ花粉 RAST スコアが2以上の陽性と判断される者で、スギ花粉症を発症している割合（有症率）は、40歳代、50歳代でも加齢と共に増加した。60歳代では横ばいであった（図）。自然寛解は約10%の中高年に認められたが、スギ花粉 RAST 値が高値のものにも認められた。

- (2) スギ花粉やダニ抗原に特異的な Th1、Th2 細胞の検出に、IL-4、GM-CSF、TNF- $\alpha$ により誘導した末梢血由来の DC を用いる ELISPOT 法による方法を確立した。また粗抗原で DC をパルスした方法と、抗原ペプチドを直接用いた方法とで結果に相関がみられることを確認した。末梢血中には全 Th1 細胞、全 Th2 細胞でみると、Th1 細胞が有意に多いが、抗原特異的 T 細胞の解析では、スギ抗原特異的 Th2 細胞が特異的 Th1 細胞に比較して多く認められた。
- (3) 鼻粘膜内に投与した DC は、直ちに頸部リンパ節に移行して留った。鼻粘膜内での前後含め周囲への移動は明らかではなかった。口蓋扁桃に投与した DC は頸部リンパ節に移行することなく、扁桃に留った。

#### D. 考察

同一住民集団の縦断的スギ花粉症に関する疫学調査から、加齢によるスギ花粉特異的 IgE の低下は、60歳代までは明らかではないこと、感作を受けている住民のスギ花粉症の有症率は、50歳代までは加齢と共に増加し60歳代でも横ばいであること、自然寛解の頻度は中高年でも高くないことから、今後益々スギ花粉症の増加が中高年者でもみられる可能性が高い。一方、頻度は少ないが高いスギ特異的 IgE 抗体を保有する患者でも自然寛解がみられることから、自然寛解の機序も含めた詳細な検討が根本治療の開発に向けて非常に重要と考えられる。抗原特異的 Th1、Th2、Tr 細胞の直接解析が可能となり、今後、発症、寛解、および免疫治療の機序の研究に有用な情報を提供すると考えられる。

#### E. 結論

60歳代までは、花粉飛散の減少が続かない限り加齢と共にスギ花粉特異的 IgE 値が低下することはない。また、感作を受けてスギ花粉特異的 IgE 抗体保有者のスギ花粉発症率は、50歳代でも加齢と共に増加し、今後も患者増加が危惧される。スギ花粉特異的 Th1、Th2、Tr 細胞の解析をすすめ、鼻粘膜を利用した免疫治療の開発と共に根本治療への発展が期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

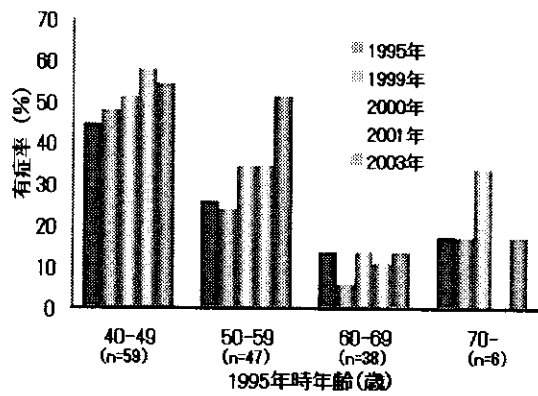
論文発表：

1. Jin.H.R., Okamoto.Y., Matsuzaki.Z., Endo.S., Ito.E. Cetirizine decreases interleukin-4, interleukin-5, and interferon- $\gamma$  gene expression in nasal associated lymphoid tissue of sensitized mice. American Journal of Rhinology 16: 43-48, 2002
2. Matsuoka.T., Okamoto.Y., Matsuzaki.Z., Endo.S., Endo.S., Ito.E., Tsutsumi.H., Williamson.R.A., Sakurai.H., Burton.D.R., Saito.I. Characteristics of immunity induced by viral antigen or conferred by antibody via different administration routes. Clinical and Experimental Immunology 130: 563-576, 2002
3. 岡本美孝. 小児のアレルギー性鼻炎の増加と問題点. 小児耳鼻咽喉科 24:25-28, 2003
4. Okawa.T., Konno.A., Yamakoshi.T., Numata.T., Terada.N., Shima.M. Analysis of natural history of Japanese cedar pollinosis. Int Arch Allergy Immunol 131: 39-45, 2003.
5. 堀口茂俊, 岡本美孝. 鼻アレルギー患者鼻粘膜局所の炎症細胞の動態. アレルギー科 15:162-168, 2003

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

**年齢階級別(同一被験者における)  
スギCAP RAST $\geq$ 2の者の有症率の変化**



# 発症の低年齢化と環境因子

岡本美孝

### はじめに

アレルギー性鼻炎をはじめとして、アレルギー疾患の増加が世界的にも問題となっている。アレルギー性鼻炎はダニを代表とする通年性アレルギー性鼻炎と、スギやヒノキといった花粉を代表とする季節性アレルギー性鼻炎（花粉症）に大別されるが、従来より前者は小児期、とくに男児に発症が多く、後者は20～40歳代のとくに女性に発症が多いとされている。我が国でのアレルギー性鼻炎の特徴は、とくに花粉症においてみられ、スギ花粉、ヒノキ花粉といった飛散距離が数10km以上と長い樹木花粉が飛散源近郊のみでなく、東京、大阪などの大都市にも多数飛散し、これらの地域での花粉症増加も引き起こしていることである。欧米でのブタクサやチモシーなど、飛散距離が数100メートルの草本花粉が中心の花粉症とは様子が大きく異なる。現在、通年性アレルギー性鼻炎は微増、花粉症は漸増しているとされ、とくに花粉症ではその増加とともに発症の低年齢化も指摘され、小児での発症も珍しくはなくなっている。

### 小児での増加

アレルギー性鼻炎の疫学調査にはいくつも大きな問題がある。第1に有病率の調査方法であるが、よく使われるアンケート調査では、「かぜでもないのによくしゃみや鼻水が出ることがありますか?」といったことで判断されることが多く、当然のことながら非常に false positive の割合が高くなってしまふ。さらに小児の場合には、アンケートに答える親の関心の高さにも影響を受けやすい。我が国では、アレルギー性鼻炎の診断基準が明確に定義されているが<sup>1)</sup>、皮膚テストや血清

中の抗体検査はかなりの費用がかかり、さらに小児を対象とした場合には協力を得られにくい。鼻汁スメアのハンセル染色による好酸球の有無の調査は、通年性アレルギー性鼻炎を対象とした場合には有効だが、抗原が判定されない、false positive, false negative の場合もあること、花粉症では非花粉飛散期には陰性になってしまうため使用が難しい、といった欠点がある。

一方、欧米の調査でも、アンケートによるものが多いが、そもそもアレルギー性鼻炎の診断基準が確立されていない。欧米でのアレルギー性鼻炎の検査は、皮膚テストあるいは血清中抗体検査から判断されることが多い。好酸球検査については、診断には重視されず用いられていない。しかし、たとえば radioallergosorbent test (RAST) スコアが2未満でもスギ花粉症と診断される患者は10%近く存在し、また RAST スコアが5.6といった高値を呈していても、発症していないものが20%前後は存在する、といったことはよく知られており、くしゃみ、鼻汁、鼻閉といった症状は非アレルギー性鼻炎でも認められ、抗体検査のみに基づく判定には問題が多い。

### 日本での小児アレルギー性鼻炎の有病率

前述したような問題点から、耳鼻科、小児科共同での慎重な疫学調査が望まれるが、今後の課題であろう。データは古いが、参考までに、1979年の久野による学校検診における鼻疾患の年代推移の報告を図1に示すが<sup>2)</sup>、1970年代にすでにいわゆる感染性副鼻腔炎の著しい減少と反比例するように、アレルギー性鼻炎の増加がみられている。最近の報告では、島が千葉県君津市の小学生約1,200名を1998年から3年にわたり経過を追ったアンケート、ならびに抗体検査からみたスギ花粉症の有病率、ならびに抗体陽性者の毎年の発症率は、約12%と15~30%という高い結果であった<sup>3)</sup>。奥田が2000年に報告した全国無作為抽出によるアンケート調査の結果を図2に示すが<sup>4)</sup>、通年性アレルギー性鼻炎は4歳以下で7.5%、5~9歳で25.5%、10~19歳で34.9%、花粉症はそれぞれ3.8%、14.7%、34.5%と高い値を示している。

また、最近のアレルギー性鼻炎の特徴として、重複抗原感作症例の増加が著しい。当科アレルギー外来での診断でも、ダニ・ハウスダスト (HD) 抗原単独感作症例の割合は現在10%程度であり、20年前の40%を超える報告と比較して著しく減少している。小児でも重複抗原感作が進み、図3に示すように、甲府市におけるアレルギー性鼻炎の小学生のスクラッチテストによる調査では、ダニ・HD のみならず、スギ、カモガヤなどの種々の花粉、ネコの毛などに対しても高い感作率がみられる。



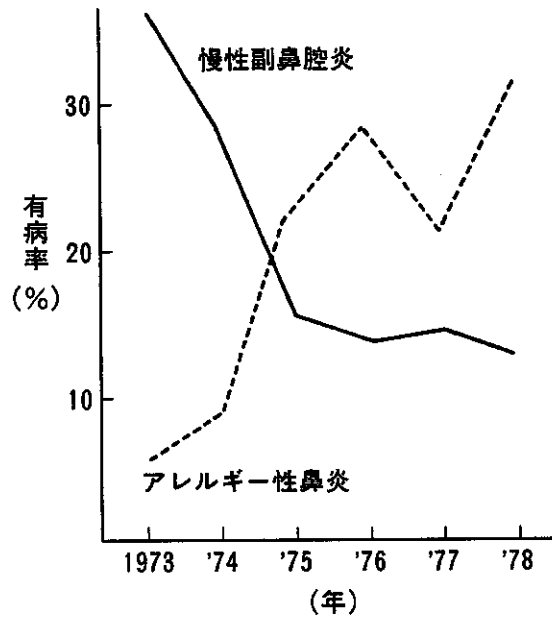


図 1. 久野による学校検診における鼻疾患の有病率の変動  
(文献 2 より引用)

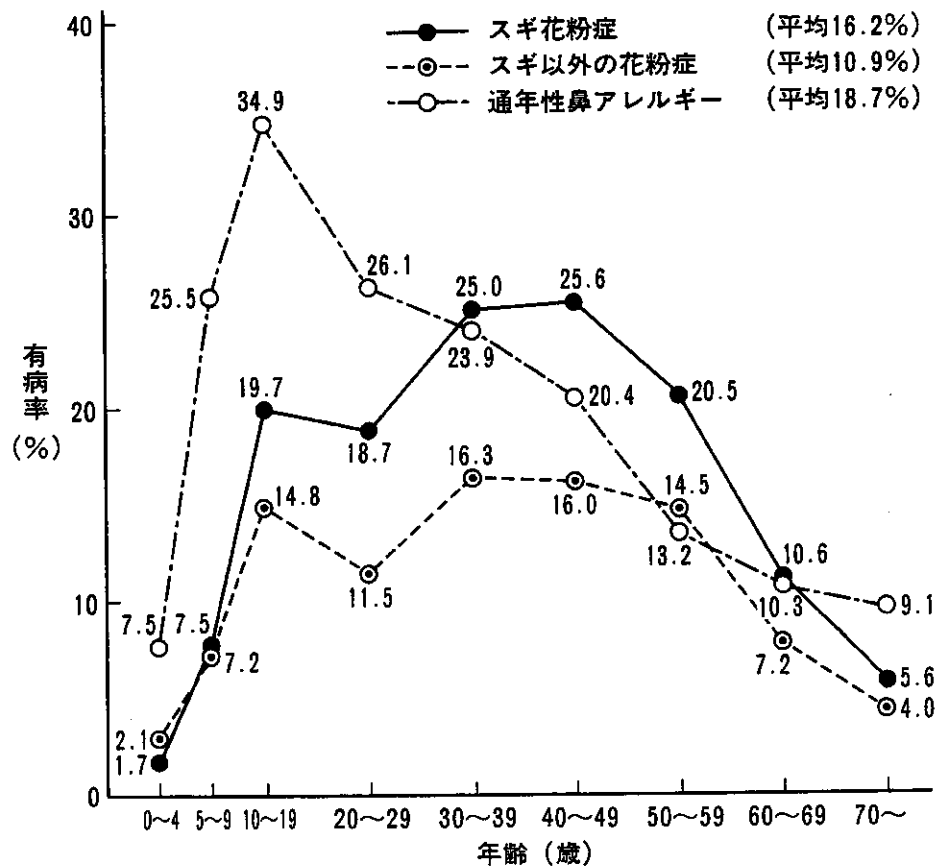


図 2. 年齢層別鼻アレルギー有病率 (全国無作為抽出によるアンケート調査結果)  
(文献 4 より引用)

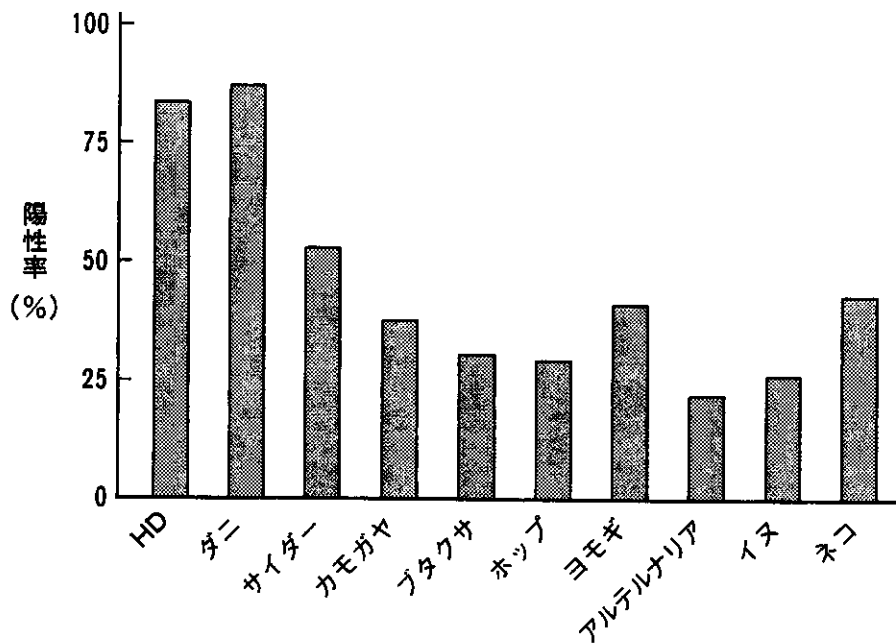


図 3. 甲府市のアレルギー性鼻炎（小学生，6～12歳）のスクラッチテスト陽性率

### 欧米での報告

欧米では、大規模なコホート調査の結果がいくつも報告されている。英国で1958年3月7日～9日に生まれた人，1974年4月5日～11日に生まれた人を対象に，いずれも16歳の時点での枯草熱の罹患頻度を親のアンケート調査から検討したものは<sup>5)</sup>，12.0%から23.3%と有意に増加している [1.93 (1.82～2.06)]。また，オーストラリアの Wagga 島の8～11歳の primary school に通う小児を対象としたアンケート，ならびに皮膚テストの検討では<sup>6)</sup>，アレルギー性鼻炎の有病率は1982年22.5%，1997年44.0%，rye grass に対するプリックテストの陽性率は，22.0%から28.8%と有意な増加が認められている [6.8 (2.7～10.9)]。米国での調査でも，調査法，報告によって有病率には差が認められるが<sup>7)</sup>，アレルギー性鼻炎の増加傾向を示す報告が多く，National Health Interview Surveys の報告では，アンケートに基づいたものであるが，喘息を合併していない花粉症の有病率は，1970年から1992年にかけて10%と約2倍に増加している。ただ，1990年代以降は増加は頭打ちになっている。

### 発症の低年齢化と性差

とくに20歳代以降に発症するとされていた花粉症が小児に増加していることは間違いないが、残念ながら低年齢化を客観的に示す信頼性の高い報告は不足している。食物アレルギーに始まる「アレルギーマーチ」の考え方<sup>8)</sup>からは、4, 5歳以降アレルギー性鼻炎に移行すると考えられてきたが、実際には通年性アレルギー性鼻炎も含めて、乳幼児期の鼻炎についての詳細な検討はほとんど行われていない。花粉症についても、発症がいつから生じているのかの検討は我が国では行われていない。チモシー花粉症ではあるが、583名の新生児を7年間 follow up したドイツの調査では<sup>9)</sup>、感作および発症とも2シーズン目から生じうるといった報告があり、スギ花粉症についても検討が急がれる。

元来、通年性アレルギー性鼻炎の発症は小児に多く、女兒に比べ男児に多いとされてきた。花粉症は20歳代以降の発症でかつ女性に多く、さらに妊娠を契機とした発症が多くみられることから、性ホルモンの関与が想定されている<sup>10)</sup>。一方、小児の花粉症ではむしろ男児に多く、やはりホルモンの影響も考えられるが、詳細はまったく不明である。

### アレルギー性鼻炎と環境因子

アレルギー性鼻炎の増加、発症の低年齢化には種々の環境因子の関与が想定されている。環境因子として取り上げられているもののうち、代表的なものを表1に示す。この中で、アレルゲンの増加はとくに大きな影響を与えていると考えられている。戦後盛んに行われたスギの植林により、これらのスギが樹齢20年、30年を経て花粉の飛散が増加した1970年代以降、スギ花粉症患者も著しく増加した。東京あきる野市での地域住民のスギ花粉症有病率の調査報告では<sup>11)</sup>、スギの累積花粉飛散数の増加とともに有病率の増加がみられ、たとえば1985年から1995年の間に約9%から19%と2倍になっている。ただし、栃木県の二つの地区での有病率の調査で、スギ花粉飛散数には差がなくとも有病率には大きな違いがみられ、交通量の影響など他の因子の関与も想定されるとしている<sup>12)</sup>。

大気汚染の関与の可能性についても古くから注目され検討されている。チモシーの花粉を大気汚染物質であるNO<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>やO<sub>3</sub>で処理した花粉抗原は、無処理のものに比べ、皮膚反応を亢進させること、ディーゼル排出粒子(DEP)は、*in vitro*や動物での検討でIgE産生亢進作用を示すことなど多くの報告がある<sup>13)</sup>。また、ド

表 1. アレルギー性鼻炎の環境因子

- 
- ・スギ花粉飛散の増加
  - ・大気汚染の進行 (NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub>, O<sub>3</sub>, DEP)
  - ・居住環境の変化 (コンクリート多用, 道路舗装など)
  - ・食生活の変化 (高蛋白・高脂肪食, 腸内細菌叢の変化)
  - ・喫煙の増加
  - ・感染症の減少
- 

イツでの小児のアレルギー性鼻炎の調査でも旧東ドイツ地区に比較して、旧西ドイツ地区にアレルギー性鼻炎の小児の割合が高く、その要因を検討すると、トラック輸送量と正の相関が認められたといった報告がされている<sup>14)</sup>。ヒトを対象とした *in vivo* での検討でも、keyhole limpet hemocyanin (KLH) の単独鼻内投与では KLH に対する特異的 IgE 抗体産生は認められないが、DEP の併用により IgE 抗体産生が認められるとした報告もある<sup>15)</sup>。とくに空中に飛散する花粉に DEP などが付着し、IgE 抗体産生の誘導、亢進に作用している、といった仮説の支持は高い。一方で、DEP も含めて大気汚染物質の測定から、これらの物質の濃度増加がない時期においても花粉症の増加がみられているとした報告など、大気汚染の関与を否定する意見も少なくない。

その他、ダニ繁殖の好条件となるコンクリートを使用した家屋の増加、都市部での道路舗装が花粉を再飛散させ、吸入量を増やしているなどといった居住環境の変化、喫煙や高蛋白・高脂肪食といった食生活の変化、腸内細菌叢の関与などがとくに喘息に関連して多く指摘されているが、アレルギー性鼻炎を対象とした検討は少ない。

一方、最近は出産後早期の生活環境がその後の免疫応答の発達に大きな影響を与えることが指摘され、とくに先進国での感染症への罹患の減少がアレルギー性鼻炎も含めたアトピー疾患の増加を促している、といった「hygiene theory」が注目されている<sup>15-17)</sup>。多数の兄弟姉妹がいる場合には、下の子どもほどアトピー疾患が少なく、早期に保育所に入園している子どもや家畜と接触している子どもにもアトピー疾患が少ないという疫学調査が報告され、経済的・地理的な違いによるアトピー疾患の発症の違いを説明しようとするものである。感染症がアレルギー性鼻炎の発症に与える影響については明らかになってはいないが、感染症の種類、患児の素因によってもその病態は大きく異なると考えられる<sup>17)</sup> (図 4)。いずれにせよ、Th2 優位な母胎環境から出生した新生児が、通常は種々の環境因子の影響を受けながら

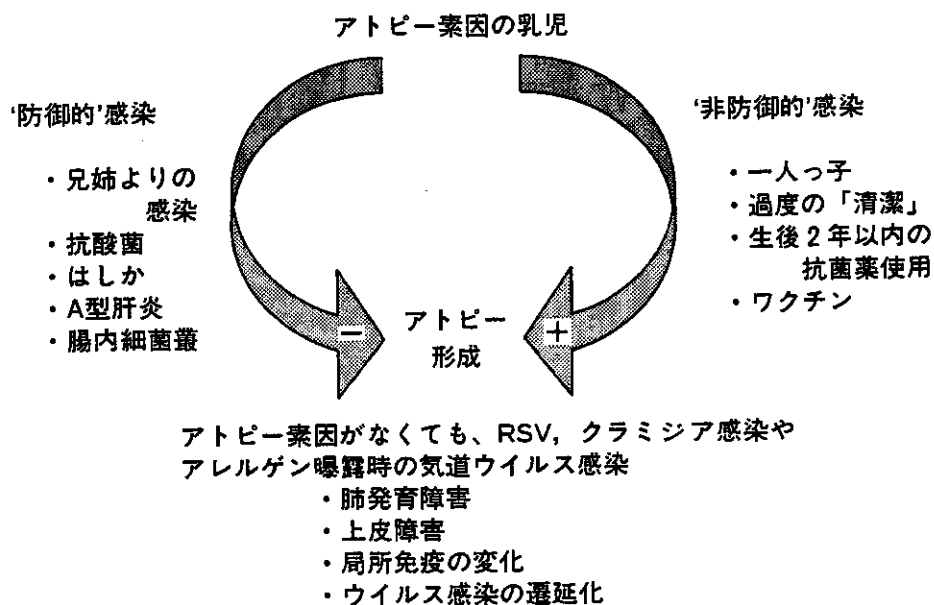


図 4. アトピー形成への感染の影響

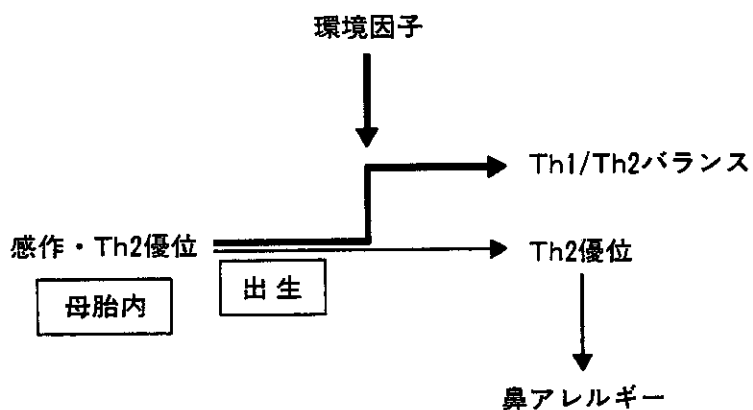


図 5. 環境因子と Th1/Th2 バランス

Th1 応答が発達してTh1/Th2 応答の良好なバランスが形作られていく中で、何らかの環境因子の関与あるいは欠落があると、Th2 応答が優位のままで種々のアレルゲンの曝露を受け、アレルギー性鼻炎発症へつなぐと考えられる (図 5)。

## おわりに

小児アレルギー性鼻炎の現状と増加原因として環境因子について概説したが、本文でも触れたように、とくに小児のデータは不足しており、正確な有病率の調査が必要である。一方、発症には当然、遺伝素因も大きく関与する。抗菌薬の登場、衛生面、医療の向上により小児の感染症による死亡は激減したが、たかだかこの約半世紀の変化である。その前には生存が難しかったかもしれない「Th2 優位な小児」の生存が可能となり、その形質が広がったことでアレルギー疾患の増加の原因となっているといった極端な説もある。環境因子として、大気汚染や hygiene theory も注目されているが、反論も多くコンセンサスは得られていない。とくに、スギ・ヒノキ花粉症という他国にはみられない特有な花粉症に苦しむ我が国では疫学調査が不足しており、コホート研究も含む今後の調査が待たれる。

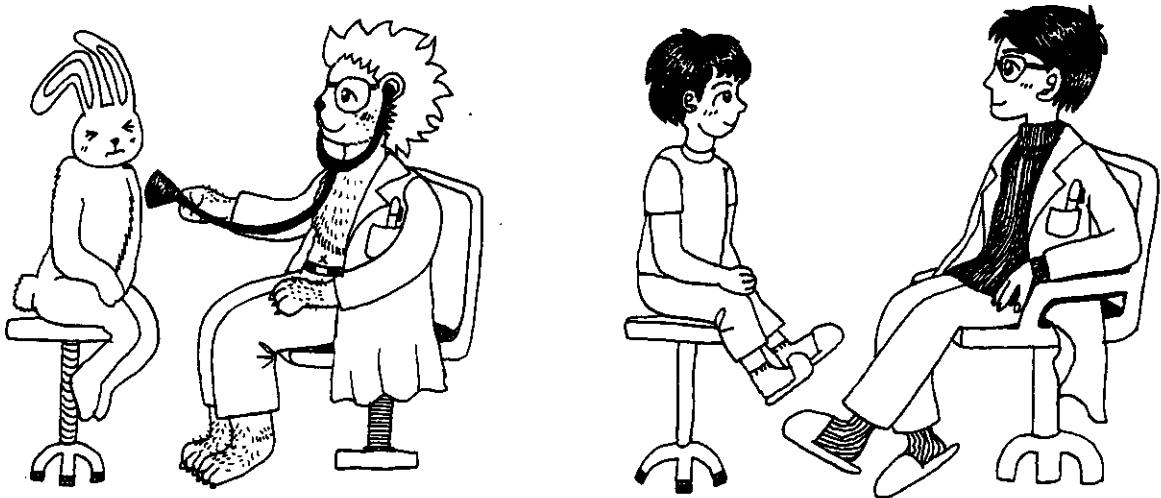
## 文 献

- 1) 鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会編：「鼻アレルギー診療ガイドライン改訂第4版」ライフ・サイエンス社、東京、2002。
- 2) 久野久仁夫：日本の鼻疾患の現状と将来。耳展 22：607, 1979。
- 3) 島 正之：疫学調査及び EBM の手法を用いた比較対照試験のデザイン。平成13年度厚生科学研究費補助金、免疫・アレルギー等研究事業研究報告書、200頁、2002。
- 4) 奥田 稔：疫学。「鼻アレルギー基礎と臨床」111頁、医薬ジャーナル社、大阪、2000。
- 5) Butland BK *et al* : Investigation into the increase in hay fever and eczema at age 16 observed between the 1958 and 1970 British birth cohorts. BMJ 315 : 717, 1997.
- 6) Downs SH *et al* : Continued increase in prevalence of asthma and atopy. Arch Dis Child 84 : 20, 2001.
- 7) Sly RM : Epidemiology of allergic rhinitis. Clin Rev Allergy Immunol 22 : 67, 2002.
- 8) 馬場 実：「小児気管支喘息」ライフサイエンス社、東京、1985。
- 9) Kullg M *et al* : Development of seasonal allergic rhinitis during the first 7 years of life. J Allergy Clin Immunol 106 : 832, 2000.
- 10) Konno A *et al* : Effect of female hormones on the muscarinic and  $\alpha$  adrenergic receptors of the nasal mucosa. ORL 48 : 45, 1986.
- 11) 西端慎一 ほか：東京都におけるスギ花粉症有病率。アレルギー 48 : 597, 1999。
- 12) 小泉一弘 ほか：「アレルギー性疾患は増えているか」国際医学出版、1987。
- 13) Thomas P *et al* : Altered skin prick test reactivity and histamine release with extracts from pollen exposed to pollutants. Int Arch Allergy Immunol 113 : 264, 1997.
- 14) Nicolai T *et al* : Pollution and the development of allergy : the East and West

- Germany story. Arch Toxicol suppl **19** : 201, 1996.
- 15) Diaz-Sanchez *et al* : Diesel exhaust particles directly induce activated mast cells to degranulate and increase histamine levels and symptom severity. J Allergy Clin Immunol **106** : 1140, 1999.
  - 16) Forastiere F *et al* : Socioeconomic status, number of siblings, and respiratory infections in early life as determinants of atopy in children. Epidemiology **8** : 566, 1997.
  - 17) Leynaert B *et al* : Does living on a farm during childhood protect against asthma, allergic rhinitis, and atopy in adulthood? Am J Respir Crit Care Med **164** : 1829, 2001.
  - 18) Openshaw PJM *et al* : Infections prevent the development of asthma-true, false or both? J Royl Soc Med **92** : 495, 1999.

## 保護者のかたへ

最近、花粉症患者さんの増加とともに、発症の低年齢化が問題になっています。一般的には少なくとも2シーズンの花粉曝露が発症には必要とされていますが、2歳以下でのスギ花粉症の発症も報告されています。なぜ低年齢化しているのかは、よく分かっていません。スギの花粉飛散が増加しているのは確かですが、そのほか大気汚染の進行、食生活の変化、寄生虫や結核菌感染の減少などが指摘されていますが、十分には解明されていません。ただ、小児では喘息との合併も多く、鼻の病状はつい見過ごされてしまうこともあります。しかし、鼻閉など鼻の粘膜の病状の改善は、喘息の改善や発作予防にもつながります。子どもは鼻の症状を正確に訴えませんが、ぜひ鼻の症状にも気をつけてあげましょう。





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

鼻粘膜アレルギー性炎症におけるCRTH2/PGD<sub>2</sub>の関与

分担研究者 寺田修久 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科学講師

研究要旨

これまでの研究から、いくつかの遺伝子多型検査を組み合わせることにより、より正確かつ効率的な予防医学の確立を追求する可能性が示唆された。本年は、CRTH2が検索遺伝子として適切か否かを知るために鼻粘膜アレルギー性炎症におけるCRTH2の役割を調べた。アレルギー性鼻炎患者末梢血から分離した単核球におけるCRTH2陽性率は臨床的重症度と相関した。アトピー症例の鼻粘膜ホモジネートでは非アトピー症例と比較してPGD<sub>2</sub>濃度、CRTH2transfectantカルシウム反応はいずれも高値を示した。抗TXA<sub>2</sub>薬であるラマトロバンは100nMでPGD<sub>2</sub>によって誘導されるCRTH2transfectantのカルシウム反応をほぼ完全に抑制した(IC<sub>50</sub>=25nM)。また、あらかじめ好酸球を、CRTH2中和活性をもつBM7あるいはラマトロバンで処理し、無処理の好酸球と比較すると鼻・副鼻腔粘膜抽出液の好酸球遊走活性はそれぞれ約27.5%、12.5%抑制された。鼻・副鼻腔粘膜におけるPGD<sub>2</sub>濃度とCRTH2カルシウム反応とは相関係数0.9以上の高い相関を示した。ECP濃度、好酸球数と、PGD<sub>2</sub>濃度、CRTH2カルシウム反応とは有意に相関した。臨床的にもラマトロバン投与により抗原誘発後の鼻腔洗浄液中好酸球は有意に減少した。以上よりCRTH2は鼻粘膜アレルギー性炎症の発現や臨床的重症度と密接に関係していることが明らかとなった。鼻粘膜好酸球炎症において、PGD<sub>2</sub>-CRTH2はeotaxin-CCR3に準じる関与が示唆された。従来選択的抗TXA<sub>2</sub>薬として認識されていたラマトロバンは抗TXA<sub>2</sub>作用とは別に、CRTH2を介して鼻粘膜における好酸球遊走や、IgE産生を抑制していると思われる。今後花粉症患者におけるCRTH2遺伝子多型の有無、臨床的重症度との関係を検討する必要性が示唆された。

A. 研究目的

これまでの研究から、生後早期にIL-4R $\alpha$ の遺伝子多型を調べることにより将来のIgE値の推移や発症をある程度予測できる可能性が示唆された。また同時にいくつかの遺伝子多型検査を組み合わせることにより、より正確かつ効率的な予防医学の確立を追求する可能性も示唆された。最近Th2細胞を誘導する反応軸としてPGD<sub>2</sub>をリガンドとする系が注目されている。PGD<sub>2</sub>はCRTH2とDPの2つのレセプターに結合するが、CRTH2はTh2細胞以外にもマスト細胞、好酸球に存在し、好塩基球、好酸球の遊走、活性化、脱顆粒を促す。さらにTh2細胞からのIL-4産生を促す。一方DPは血管内皮細胞、好酸球、Th2細胞に存在し、血管透過性亢進、好酸球のapoptosis抑制を促す。また、Th2細胞においてはIL-4産生を抑制する。以上よりPGD<sub>2</sub>/CRTH2の反応系はアレルギー性炎症に強く関与していることが予想される。CRTH2にも遺伝子多型の存在が知られている。一方、Sugimoyoらは、TXA<sub>2</sub>拮抗薬であり鼻閉に対する効果が確認されているラマトロバンがCRTH2に対して拮抗作用を有することを示した(1)。本年は、CRTH2が検索遺伝子として適切か否か、鼻粘膜アレルギー性炎症における役割

を知るため以下の検討をおこなった。

B. 方法 (1)末梢血単核球CRTH2陽性細胞、CRTH2陰性CCR-5陽性細胞の発現率とアレルギー性鼻炎重症度との相関をフローサイトメーターで検討した。(2)リガンドであるPGD<sub>2</sub>の好酸球遊走活性をtransmigration assayを用いて他の好酸球遊走印紙因子と比較検討した。(3)CRTH2transfectantを用いて、鼻粘膜ホモジネートによる細胞内カルシウム反応をアレルギー性鼻炎症例と非アレルギーとで比較した。(4)また、鼻粘膜ホモジネートによって生じるカルシウム移動に与える各種薬剤の影響について検討し、新たなCRTH2拮抗薬の可能性について検討を加えた。(5)鼻粘膜組織中好酸球数と同じ症例の鼻粘膜ホモジネート中ECP、PGD<sub>2</sub>、CRTH2transfectantの細胞内カルシウム反応との相関を調べた。

C. 結果

アレルギー性鼻炎患者末梢血から分離した単核球におけるCRTH2陽性率は臨床的重症度と相関した。一方、CRTH2陰性CCR-5陽性細胞の発現率との間には有意な相関は認められなかった。Transmigration assayにおけるPGD<sub>2</sub>遊走活性は比較的弱くeotaxin3とPAFの中間程度であった。アトピー症例の鼻粘膜ホモジネ

ートでは非アトピー症例と比較してPGD2濃度、CRTH2 transfectantカルシウム反応いずれも高値を示した。抗TXA2薬であるラマトロバンは100nMでPGD2によって誘導されるCRTH2 transfectantのカルシウム反応をほぼ完全に抑制した(IC50=25nM)。一方、抗ロイコトリエン薬、Th2阻害薬では明らかな抑制効果は認められなかった。また、あらかじめ好酸球を、CRTH2中和活性をもつBM7あるいはラマトロバンで処理し、無処理の好酸球と比較すると鼻・副鼻腔粘膜抽出液の好酸球遊走活性はそれぞれ約27.5%、12.5%抑制された。鼻・副鼻腔粘膜におけるPGD2濃度とCRTH2カルシウム反応とは相関係数0.9以上の高い相関を示した。ECP濃度、好酸球数と、PGD2濃度、CRTH2カルシウム反応とは有意に相関した。臨床的にもラマトロバン投与により抗原誘発後の鼻腔洗浄液中好酸球は有意に減少した(2)。

#### D. 考察および結論

CRTH2は鼻粘膜アレルギー性炎症の発現や臨床的重症度と密接に関係している。鼻粘膜好酸球炎症において、PGD2-CRTH2はeotaxin-CCR3に準じる関与が示唆された。従来選択的抗TXA2薬として認識されていたラマトロバンは抗TXA2作用とは別に、CRTH2を介して鼻粘膜における好酸球遊走や、IgE産生を抑制していると思われる。選択的抗TXA2作用のみを有するセラトログラスト(プロニカ)はモルモット肺胞液中の好酸球の抑制効果は認められなかった。また第III相二重盲検試験においてプロニカの最終全般改善度が55.4%であったのに対し、ラマトロバンは67.4%であった。TXA2拮抗作用のみでなく、CRTH2拮抗作用を持っている方が臨床的にも効果を発揮すると考えられこの点からもCRTH2が花粉症の病態成立に対する関与が大きいことが示唆される。今後花粉症患者におけるCRTH2遺伝子多型の有無、臨床的重症度との関係を検討する必要性が示唆された。

(1) Sugimoto H, Shichijo M, Iino T, Manabe Y, Watanabe A, Shimazaki M, Gantner F, Bacon KB. An orally bioavailable small molecule antagonist of CRTH2, ramatroban (BAYu3405), inhibits prostaglandin D2-induced eosinophil migration in vitro. *J Pharmacol Exp Ther.* 305(1):347-52, 2003.

(2) Terada N, Yamakoshi T, Hasegawa M, Tanikawa H, Nagata H, Maesako K, Konno A. Effect of a thromboxane A2 receptor antagonist, ramatroban (BAYu3405), on inflammatory cells, chemical mediators

and non-specific nasal hyperreactivity after allergen challenge in patients with perennial allergic rhinitis. *Allergology International* 47:59-67, 1998.

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

牛来茂樹、寺田修久、七條通孝、永田欽也、平井博之、菅原由人、岡本美孝 鼻副鼻腔疾患とケモカイン 第53回日本アレルギー学会総会 岐阜 2003/10

小林 正、寺田修久、牛来茂樹、渋谷真理子、昼間清、岡本美孝、今野昭義、CRTH2を介した鼻粘膜好酸球性炎症に対するラマトロバンの制御作用 第22回耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 札幌 2004/3

##### 2. 発表論文

Okawa T, Konno A, Yamakoshi T, Numata T, Terada N, Shima M. Analysis of natural history of Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy and Immunol* 131:39-45, 2003.

日本アレルギー性鼻炎  
標準QOL調査

調査結果報告書

2003年5月1日

## 目次

■調査概要	
■調査結果の要約・まとめ	① ~ ⑧
■調査結果の解説	1 ~ 31
I. 最近1~2週間の自覚症状	1 ~ 7
(1) 性別・年齢別	1 ~ 6
(2) 総括状態別	7
II. 精神的症状(QOL)	8 ~ 27
(1) 性別・年齢別	8 ~ 24
(2) 総括状態別	25 ~ 26
(3) 領域別スコア	27
III. 総括的状态	28
IV. 花粉症の治療状況	29 ~ 30
V. 対象者属性	31