

## 小児気管支喘息とアレルギー性鼻炎の関連に関する疫学的研究

分担研究者 河野陽一 千葉大学大学院医学研究院小児病態学教授  
研究協力者 千葉大学大学院医学研究院小児病態学 下条直樹、鈴木修一、富板美奈子、井上祐三朗  
千葉市立海浜病院小児科 山口賢一  
千葉市立青葉病院耳鼻咽喉科 仲野公一  
千葉県こども病院アレルギー科 星岡 明

### 研究要旨

小児気管支喘息患者557名を対象としてアレルギー性鼻炎の合併率をアンケートで調査した。アレルギー性鼻炎の合併率はおよそ75%であり、乳幼児期の鼻炎では水様性鼻汁が多く、年長になるにつれ鼻閉やくしゃみが増加していた。およそ60%の患者で鼻症状は通年性であった。一方、スギ花粉症と考えられる患者は3歳までの鼻炎を有する喘息患者のおよそ15%であり、7-12歳で40%に達して、その後横ばいであった。患者の多くで、初回喘鳴は鼻症状と同時期か鼻症状に先行していたが、鼻炎が喘息よりも1年以上早く発症した患者が10数%存在した。この群の鼻炎発症年齢は1歳であり、喘息先行型での鼻炎発症年齢の5歳に比較して明らかに早期であった。患者の年齢によって若干異なるが、1/3の患者が鼻症状と喘息の発作が関連していると考えており、乳幼児期のアレルギー性鼻炎の早期同定と介入療法は喘息発症の予防になりうる可能性があると考えられる。

### A. 研究目的

気管支喘息は小児においてもっとも頻度の高い慢性疾患であり、アレルギー性鼻炎を合併する症例が経験的に多いとされている。アレルギー性鼻炎の活動性が高い場合には、気道過敏性も亢進し、気管支喘息が悪化しやすい。また、アレルギー性鼻炎が気管支喘息に先行して発症することがあり、薬物あるいはアレルギー特異減感療法による鼻炎の治療による喘息発症予防効果が海外で報告されている。喘息のearly interventionを考える上で、鼻炎と喘息の病態の関連を明らかにすることはきわめて重要である。しかし、我が国での小児を対象とする報告は少ない。そこで、本年度の研究では、千葉大学小児科の関連施設において、小児気管支喘息患者を対象としたアンケート調査を実施し、気管支喘息とアレルギー性鼻炎の合併率、喘息と鼻炎の発症時期、鼻炎と喘息の悪化の関連、鼻炎の季節性等について検討した。

### B. 方法

千葉大学および関連病院小児科を受診している1歳から18歳までの気管支喘息患者の保護者を対象にアンケート調査を行った。アンケートの内

容は、アレルギー性鼻炎症状の有無、初回喘鳴と鼻症状の出現時期、鼻症状の季節性などである。アレルギー性鼻炎の診断は、明確な感染症状がなく2週間以上続く鼻炎症状の有無によった。

### C. 研究結果

- 1) 557名の喘息患者からアンケートを回収した。このうち鼻炎症状がない患者、また鼻閉のみを症状とした患者を除いた418名(75.0%)がアレルギー性鼻炎を合併していると考えられた。
- 2) 鼻症状としては年少児で水様性鼻汁の率が高く、初発症状としての重要性が明らかとなった(図1)。
- 3) 鼻症状は各年齢とも通年性がおおよそ40%であったのに対し、2-4月の限られた時期に症状が発現または増悪する患者は3歳以下で15%程度であり、13歳以上では40%と加齢に伴い増加した。今回調査した小児喘息患者ではおおよそ35%がスギ花粉症を合併していると考えられた(図2)。
- 4) 喘息症状と鼻症状の出現時期については、鼻症状が初回喘鳴よりも1年以上早期に出現した患者はおおよそ18.5%であり(図3)、その平均鼻炎発症年齢は1.4歳、平均喘息発症年齢は2.9歳であ

った。一方、鼻炎症状が喘息症状よりも1年以上遅れて明確になった患者は36%で、平均鼻炎発症年齢は5.3歳、平均喘息発症年齢は2.3歳であった(図4)。

5)喘息悪化に鼻炎悪化が関連する患者は全体では40%であったが、特に4-6歳の層で50%をこえていた(図5)。

#### D. 考察

小児喘息におけるアレルギー性鼻炎の合併率は75%と高かったが、この結果は医師の診断に基づく従来からの我が国の小児喘息患者の鼻炎合併率とおおむね近い結果であり、本アンケートによる調査結果の信頼性を示している。我が国では、ダニが鼻炎と喘息に共通の主要なアレルギーであり、実際に今回の小児喘息患者の鼻炎症状も2/3の患者で通年性であり、ダニアレルギーの関与が大きいことを示唆している。ダニアレルギーが鼻炎と喘息に共通の主要アレルギーであるならば、one way, one diseaseの観点からは、両者の発症時期は同時か鼻炎がより早期である可能性が想定される。しかしながら、本調査からは、我が国では海外の報告と異なり、鼻炎先行型の小児喘息患者は少ないとのアンケート調査であった。海外での調査と本邦での調査の結果の違いは不明である。しかしながら、鼻炎症状が初期には軽度で保護者に認識されない可能性は存在する。喘息患者には、食物アレルギーを伴うアトピー性皮膚炎からダニ感作に至り喘息を発症する患者と明確なアレルギー疾患の既往はないが気道感染を契機に反復性喘鳴を繰り返し喘息と診断される患者が存在する。前者の患者群ではすでにアトピー性皮膚炎の治療等で抗ヒスタミン作用を有する抗アレルギー薬が使用されていることが多く、これらの患者では軽度の鼻炎症状がマスクされている可能性も高い。この点を明らかにするためには、食物アレルギーを伴うアトピー性皮膚炎患者を前方視的に耳鼻科医により追跡調査することが必要であると考えられる。

今回のアンケート調査では、喘息患者におけるスギ花粉症の合併率は中学生以上では半数近くになっていた。これは一般集団におけるスギ花粉症有症率よりも高く、喘息患者ではone way, one diseaseとしてダニによる通年性鼻炎のみでなく、スギ花粉症も合併しやすいことを示している。また鼻炎の悪化が喘息の悪化と連動する患者がおよそ半数に及び、喘息患者における鼻炎治療の重要性が示唆される。さらに鼻炎の段階での積極的な治療が喘息発症予防につながる可能性もあると考えられる。今回の調査から、鼻炎の早期症状が水様性鼻汁であることがわかったため、これを指標として鼻炎患者を診察することで早期介入療法が可能となると考えられる。

#### E. 結論

小児気管支喘息におけるアレルギー性鼻炎の合併率と発症時期の関連について検討した。アレルギー性鼻炎の治療による小児気管支喘息の改善、さらに早期介入療法による喘息発症予防の可能性が示唆された。鼻炎患者の早期診断には食物アレルギーを伴いアトピー性皮膚炎乳幼児のコホート調査が必要と考えられる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shimojo N, Suzuki S, Tomiita M, Inoue Y, Nakano K, Kohno Y. Allergic rhinitis in children: association with asthma. Clin Exp All Rev 4:21-25, 2004.

##### 2. 学会発表

下条直樹, 鈴木修一, 富板美奈子, 井上祐三朗, 河野陽一, 仲野公一. 小児喘息におけるアレルギー性鼻炎 アンケート調査から. 第21回日本小児難治喘息・アレルギー疾患学会(宇都宮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

図1 アレルギー性鼻炎における年齢別鼻症状頻度

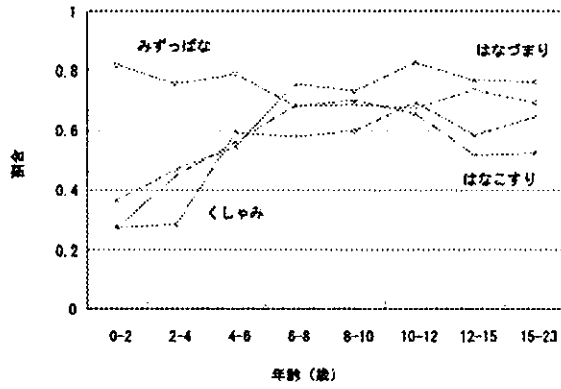


図2 鼻症状の年齢別季節性

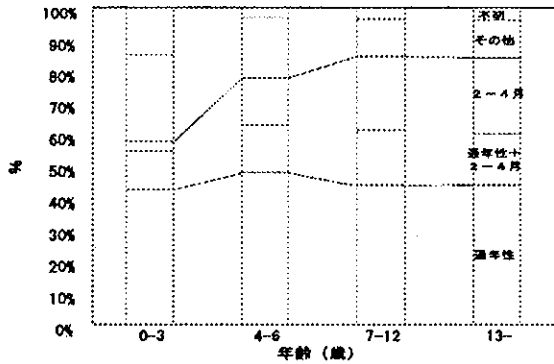


図3 初回喘息年齢と鼻炎発症年齢の関連

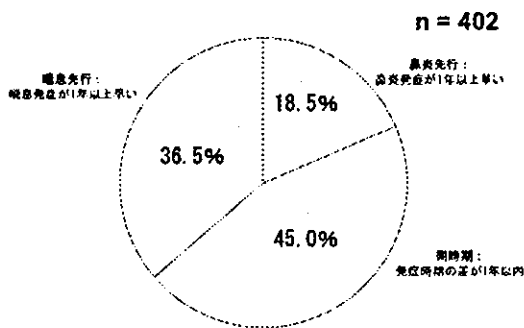
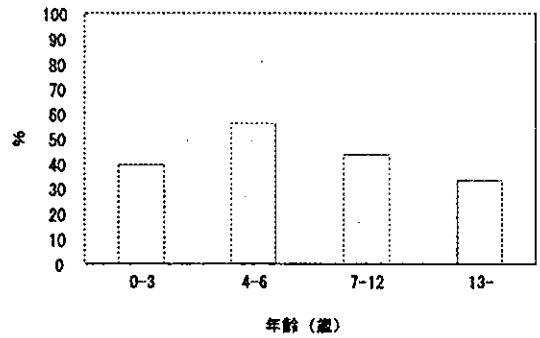


表1 鼻炎と喘息発症時期の関係とそれぞれの発症年齢

発症パターン	人数 (402)	平均鼻炎発症年齢 (歳)	平均喘息発症年齢 (歳)
鼻炎先行 (鼻炎発症が1年以上早い)	74	1.4±2.1	2.9±2.8
同時発症 (発症時期の差が1年以内)	183	2.0±2.0	2.3±2.0
喘息先行 (喘息発症が1年以上早い)	145	5.3±2.8	2.3±1.4

\* P<0.01

図4 鼻症状と喘息発作との関連の年齢推移



## 小児アレルギー性鼻炎の感作率、有症率に関する疫学調査

分担研究者 島 正之 兵庫医科大学公衆衛生学教授

**研究要旨** 同一地域における小児アレルギー性鼻炎の有症率、ダニ及びスギ花粉への感作率の年次推移を検討し、気管支喘息との関係についても解析を行った。千葉県君津市の3小学校(対象者数1,183~1,478名)では1997~2003年の7年間、千葉縣市川市の3小学校(対象者数1,226~1,249名)では2001~2003年の3年間にわたって経年的に実施された疫学調査の結果を用いた。調査は、毎年秋に各小学校の全児童を対象としてThe International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)に準拠した質問紙調査を行い、保護者及び本人の同意が得られた児童は採血を行って血清中ダニ、スギ特異IgE抗体を測定し、クラス2以上を陽性とした。この間に、アレルギー性鼻炎有症率、ダニ特異IgE抗体陽性率は増加する傾向が観察された。スギ花粉症有症率、スギ特異IgE抗体陽性率は2003年に低下していたが、スギ花粉飛散数が少なかったことを反映していると考えられた。気管支喘息にアレルギー性鼻炎が合併する割合は極めて高率であり、観察期間中に発症するものの割合も高率であり、アレルギー性鼻炎があるものは喘息を発症する割合が高かった。また、ダニ特異IgE抗体陽性のものは気管支喘息及びアレルギー性鼻炎有症率が高かった。ダニ陽性でこれらの症状がないものも、観察期間中に新たに症状を発症するものの割合が高く、ダニ感作がアレルギー性鼻炎及び喘息発症のリスクであることが示された。

### A. 研究目的

小児期におけるアレルギー性鼻炎が増加傾向にあることを指摘する報告は多数見られる。しかし、それらの報告では対象や調査方法等が統一されておらず、小児集団におけるスギ花粉等に対する感作率およびアレルギー性鼻炎の有症率は報告者によってかなり大きな差が認められている。また、同一地域における感作率や有症率の経年的な推移についてはほとんど知られていない。

一方、アレルギー性鼻炎にはしばしば気管支喘息が合併することが知られているが、小児集団における両者の関係についての疫学的知見は乏しい。

本研究は、同一地域の小学校において経年的に実施された疫学調査の結果を用いて、アレルギー性鼻炎有症率の年次推移及び気管支喘息との関係について検討した。

### B. 研究方法

1997~2003年の7年間にわたり毎年秋に、千葉県君津市の山間部にある1小学校および東京湾岸の臨海部にある隣接した2小学校の全児童(対象者数は3小学校合計で調査年により1,183~1,478名)

を対象として、The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)に準拠した質問紙調査を実施した。さらに保護者及び本人の承諾の得られた児童を対象に採血を行い、血清中ヤケヒョウヒダニおよびスギ特異IgE抗体を測定し、それぞれクラス2以上を陽性とした。

2001~2003年の3年間は、東京都に近接する千葉縣市川市の3小学校においても全児童(対象者数1,226~1,249名)を対象として君津市と同様の調査を実施した。

本研究では、これらの疫学調査の結果を用いて再解析を行い、アレルギー性鼻炎等の有症率の年次推移を検討した。

鼻症状は「最近12カ月間に風邪でないのにくしゃみ、鼻水、鼻閉があった」もの、鼻・結膜症状は「これらの症状と同時に眼のかゆみ、流涙があった」ものとした。

血液検査を受診したもの(受診率78.2~88.8%)については、鼻症状がありダニ陽性のものをアレルギー性鼻炎、調査年の2~4月に鼻・結膜症状がありスギ陽性のものをスギ花粉症とした。

(倫理面への配慮)

児童の保護者に対して、学校を通じて本研究の主旨を説明する文書を配布し、書面による同意の得られたものについてのみ質問紙の回収および採血を実施した。採血の実施に際しては、児童にも検査の意義と方法をわかりやすく説明して同意を得た。

検査結果は密封して保護者に報告するとともに、電話等による問い合わせに応じた。質問紙は内容を確認後、氏名等の個人情報が記載された部分を切り離して厳重に保管し、解析に当たってはすべての結果を符号化したため、個人情報は完全に保護されている。

C. 研究結果

(1) 君津市における7年間の推移

図に示したとおり、君津市の3小学校における鼻症状の有症率は1997年(25.5%)から2001年(28.4%)まではほぼ横ばいで大きな変化はみられなかったが、2002年には40.0%に上昇した。

ダニ特異IgE抗体陽性率は1997年に33.9%であったが、2003年には45.2%に増加し、アレルギー性鼻炎有症率も年々増加する傾向が認められた。

スギ特異IgE抗体陽性率は1999年から2001年までは年々増加していたが、2002年、2003年はやや低下した。スギ花粉症有症率は1999年から2002年までは年々増加し、2003年には低下していた。

(2) 気管支喘息、ダニ特異IgEとの関係

2001年に千葉県君津市、市川市の小学生2,500名(血液検査を受診したものは2,093名)を対象とした調査では、気管支喘息(ATSD-DLD質問票の基準に準拠)を有するものは205名(8.2%)であった。これらのうち72.3%はアレルギー性鼻炎、25.9%はスギ花粉症を合併していたが、気管支喘息症状のないものではそれぞれ18.9%、8.3%に過ぎなかった。

喘息症状のあるもののダニ特異IgE抗体陽性率は92.8%であり、鼻症状を合併しているもの(97.6%)、喘息のみのもの(79.1%)よりも高率であった。喘息症状がなく鼻症状のあるもののダニ特異IgE抗体陽性率は64.3%、いずれの症状もないものは34.1%であった。

(3) 発症率の検討(縦断的観察)

2001年にアレルギー性鼻炎がなく、その後の2年間にアレルギー性鼻炎を発症したものについて検討した。2001年に喘息症状があったものでは53.8%、喘息症状がなかったものでは27.6%がこの間にアレルギー性鼻炎を発症しており、喘息症状があったものが有意に高率であった。同様に、この間にスギ花粉症を発症したものは喘息症状があったものでは33.9%、なかったものでは14.1%であり、喘息症状があったものが有意に高かった。

2001年に喘息症状がなく、その後の2年間に喘息を発症したものは、アレルギー性鼻炎があったもの(3.3%)は、なかったもの(0.6%)よりも有意に高率であった。一方、花粉症があったもの(1.7%)

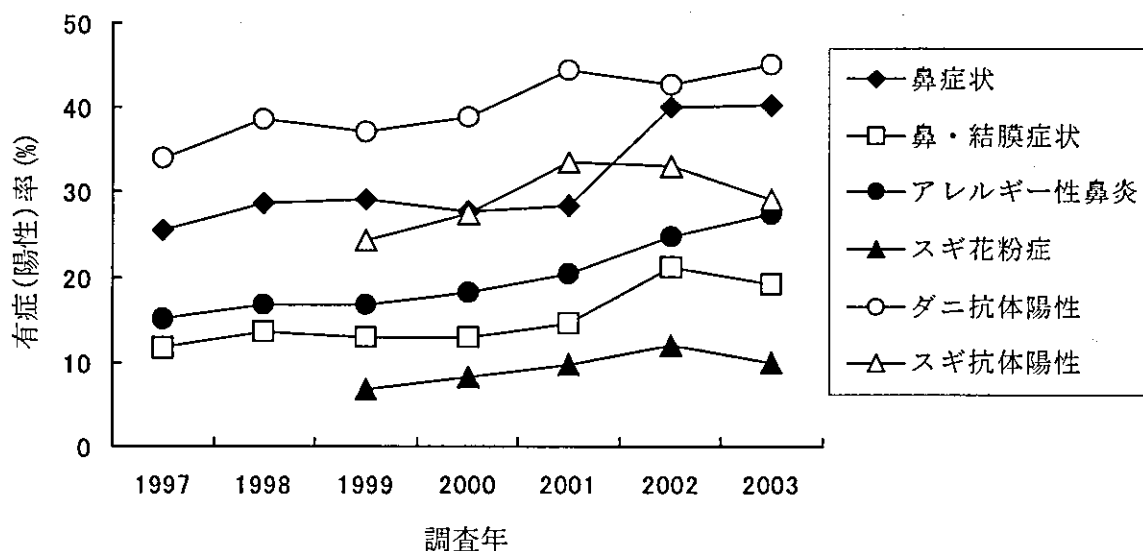


図 アレルギー性鼻炎有症率、ダニ・スギ抗体陽性率の年次推移

となかったもの (1.1%) の発症率の差は有意ではなかった。

2001 年に血液検査を受診し、ダニ特異 IgE 抗体陽性であり鼻症状がなかったものは 245 名であった。このうち、その後の 2 年間に 53.2% が鼻症状を発症していた。ダニ特異 IgE 抗体価別の発症率を見ると、クラス 4 以上では 65.9%、クラス 2~3 では 40.2% であり、抗体価が高いものの発症率が有意に高かった。一方、2001 年にダニ特異 IgE 抗体が陰性であったものの鼻症状発症率は 23.0% と低かった。

2001 年にダニ特異 IgE 抗体陽性であり喘息症状がなかったものは 370 名であった。このうち、その後の 2 年間に 4.5% が喘息症状を発症していた。ダニ特異 IgE 抗体価別の発症率を見ると、クラス 4 以上では 4.0%、クラス 2~3 では 1.8% であり、抗体価が高いものの発症率が高かったが、その差は有意ではなかった。2001 年にダニ特異 IgE 抗体が陰性であったものの喘息発症率は 0.5% と低かった。

#### D. 考察

国際的に広く用いられている小児のアレルギーに関する ISAAC 質問票を用いて、1997 年から 2003 年まで同じ地域の小学校を対象に継続して行った疫学調査の結果を用いて再解析を行い、アレルギー性鼻炎等の有症率の年次推移を検討した。

小学生のアレルギー性鼻炎有症率、ダニ特異 IgE 抗体陽性率は増加する傾向が観察された。スギ花粉症有症率、スギ特異 IgE 抗体陽性率は 2003 年に低下していたが、この年のスギ花粉飛散数が他の年よりも少なかったことを反映していると考えられた。

気管支喘息にアレルギー性鼻炎が合併する割合は 72.3% と極めて高率であることが明らかとなった。喘息があったものでは、アレルギー性鼻炎がなくても観察期間中に新たに発症したものの割合が高率であった。一方、アレルギー性鼻炎があるものでは喘息を発症する割合が高いことも明らかとなった。

血液検査を行ったものについての解析では、ダニ特異 IgE 抗体陽性のは気管支喘息及び鼻症状の有症率が高いことが示された。ダニ特異 IgE 抗体陽性でこれらの症状がなかったものも、観察期間中に新たに症状を発症するものの割合が高率であり、かつダニ特異 IgE 抗体価の高いものほど発症率が高いことが明らかとなった。これらの結果より、ダニ感作のレベルがアレルギー性鼻炎及び喘息発症のリス

クとなっていることが示唆された。

#### E. 結論

同一地域において経年的に実施された疫学調査の結果より、小学生のアレルギー性鼻炎は増加傾向にあることが明らかとなった。アレルギー性鼻炎と喘息の合併は高率にみられ、喘息症状があったものでは、アレルギー性鼻炎がなくても観察期間中に発症したものの割合が高かった。血液検査の結果では、ダニ特異 IgE 抗体陽性とアレルギー性鼻炎及び喘息との関連が大きかった。ダニ陽性であったものはアレルギー性鼻炎及び喘息症状を発症する割合も高かった。

今後は、アレルギー性鼻炎および気管支喘息の症状の推移と病態の関連を明らかにするとともに、これらの疾患に対する治療の影響についても検討することが必要であると考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

島 正之. 小児スギ花粉症の有症率、感作率の年次推移と今後の展望. アレルギー科, 19(1):19-25, 2005.

##### 2. 学会発表

- 1) 寺田修久, 大川 徹, 島 正之, 山越隆行, 岡本美孝, 今野昭義. アレルギー性鼻炎患者の動向. 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会. (アレルギー, 53 (2,3) 236, 2004)
- 2) 星岡 明, 島 正之, 下条直樹, 岡本美孝, 河野陽一. 小児における気管支ぜん息とアレルギー性鼻炎: 疫学的観点から. 第 54 回日本アレルギー学会総会. (アレルギー, 53 (8,9) 825, 2004)

## メモリーTh2 細胞研究

分担研究者：中山俊憲 千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学 教授

### 研究要旨

1型アレルギーの発症はTh1/Th2のバランスによって制御されていることがわかってきた。花粉症は、慢性気道炎症を特徴とする喘息などのアレルギー疾患と違って、1型アレルギーの典型的な病態である。従ってTh1/Th2のバランスの制御による免疫治療によって病態の改善がもっとも期待できる対象疾患である。これまで、減感作療法はある程度の治療効果を発揮してきたが、著効例においても数年は杉花粉特異的なIgEなどは高値を示したままである。これは、杉花粉特異的なメモリー細胞の寿命がかなり長いために、数年にわたって杉花粉特異的なIgE産生が続くためであると考えられる。アレルゲン特異的なメモリーTh2細胞の制御なしに根治治療の樹立は期待できない。しかし、メモリーTh2細胞の成立や生存、機能維持に関する研究は、ほとんど行われていない。そこで、マウスおよびヒトの細胞で、アレルゲン特異的なメモリーTh2細胞の形成と機能維持に関わる分子レベルでの解析を行う。また、杉花粉症の患者で、シーズンと非シーズンに分けた花粉抗原特異的なTh1/Th2細胞のクローンサイズの定量的検討を行う。この研究によって、花粉症患者でのアレルゲン特異的なメモリーTh2細胞の形成と機能維持に関する機序が明らかになり、エビデンスに基づいた花粉症の免疫治療の樹立に貢献すると考えられる。

### A. 研究目的

アレルギー発症の要の細胞であるメモリーTh2細胞の成立、生存、機能維持に関する分子レベルでの検討を行い、アレルギーをターゲットにした免疫療法の開発研究に貢献することを目的とする。

### B. 研究方法

IL-4, IL-5, IL-13などのTh2サイトカインを産生するTh2細胞の、分化を制御する分子機構は次

第に明らかになってきたが、一度出来たTh2細胞がどのような分子機構でTh2サイトカインを産生する能力を維持しているのかに関してはほとんど不明である。そこで、卵アレルギーの主要アレルゲンであるOVA特異的なナイーブCD4T細胞を、*in vitro*で抗原とIL-4を用いて培養することでTh2細胞分化を誘導し、出来たTh2細胞を正常のマウス及びヌードマウスに移入し、OVA特異的なメモリーTh2細胞を作成する。そしてどのような分子がメモリーTh2細胞の形成、維

持に必要なに関して IL-4 遺伝子欠損マウスを用いて解析した。

(倫理面への配慮)

この申請研究では、ヒト由来のサンプルは使用しない。

動物実験は千葉大学実験動物委員会の指針を遵守して行う。

### C. 研究結果

次の3点の結果が得られた。1. 典型的メモリーTh2細胞の作成実験系の樹立。細胞移入より1ヶ月程度すると、IL-2R, IL-7R $\alpha$ , CD44が高発現し、OVAによるリコールレスポンスに対して即座に反応して分裂し、しかもTh2サイトカインを大量に産生する、典型的なメモリーTh2細胞が出来ることがわかった。2. IL-4ノックアウトマウスのT細胞を用いて細胞移入実験を行い、IL-4はメモリーTh2の形成、機能維持に必要なことがわかった。3. クロマチンレベルの解析から、IL-4遺伝子座のヒストンアセチル化(転写活性と相関)は、メモリーTh2細胞で維持されており、それはあるレベルで起こる転写に依存性して維持されていることがわかった。

(Yamashita et al. *J. Biol. Chem.* 279:39454,2004)

### D. 考察

新たに樹立したメモリー細胞形成の実験系では、1匹から $1 \times 10^7$ 個以上のメモリーTh2細胞を調整することが出来、分子機構の研究にとって非常に有用なモデルであることがわかった。Th2細胞の分化に必須のIL-4はメモリー細胞の形成、維持には必要ないことが明らかになり、アレルギーの分子レベルでの治療のターゲットとしてIL-4の再評価が必要であることがわかった。また、Th2サイトカイン遺伝子座のクロマチンリモ

デリングに関して、「転写」という新たな調節機構が明らかになった。

### E. 結論

アレルギー発症に重要なメモリーTh2細胞の成立、生存に関わる一つの分子機構が明らかになった。非常に有用な新規の実験系が樹立できた。

### G. 研究発表

論文発表

1. Koike, J., Wakao, H., Ishizuka, Y., Sato, T., Hamaoki, M., Seino, K., Koseki, H., Nakayama, T., and Taniguchi, M.: Bone marrow allograft rejection mediated by a novel murine NK receptor, NKG2I. *J. Exp. Med.* 199:137-143 (2004).
2. Watanabe, H., Shimizu, T., Nishihara, J., Abe, R., Nakayama, T., Taniguchi, M., Sabe, H., Ishibashi, T., and Shimizu, H.: Ultraviolet A-induced production of matrix metalloproteinase-1 is mediated by macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human dermal fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 279:1676-1683 (2004).
3. Hasegawa, A., Cheng, X., Kajino, K., Berezov, A., Murata, K., Nakayama, T., Yagita, H., Murali, R., and Greene, M. I.: Fas-disabling small exocyclic peptide mimetics limit apoptosis by an unexpected mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:6599-6604 (2004).
4. Kobayashi, S., Kaneko, Y., Seino, K., Yamada, Y., Motohashi, S., Koike, J., Sugaya, K., Kuriyama, T., Asano, S., Tsuda, T., Wakao, H., Harada, M., Kojo, S., Nakayama, T., and Taniguchi, M.: Impaired IFN- $\gamma$  production of V $\alpha$ 24 NKT cells in non-remitting sarcoidosis. *Int.*



- Immunol.* 16:215-222 (2004).
5. Harada, M., Seino, K., Wakao, H., Sakata, S., Ishizuka, Y., Ito, T., Kojo, S., Nakayama, T., and Taniguchi, M.: Down-regulation of the invariant V 14 antigen receptor in NKT cells upon activation. *Int. Immunol.* 16:241-247 (2004).
  6. Inami, M., Yamashita, M., Tenda, Y., Hasegawa, A., Kimura, M., Hashimoto, K., Seki, N., Taniguchi, M., and Nakayama, T.: CD28 costimulation controls histone hyperacetylation of the IL-5 gene locus in developing Th2 cells. *J. Biol. Chem.* 279:23123-23133 (2004).
  7. Yamashita, M., Ukai-Tadenuma, M., Miyamoto, T., Sugaya, K., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Kimura, M., Taniguchi, M., DeGregori, J., and Nakayama, T.: Essential role of GATA3 for the maintenance of Type 2 helper T (Th2) cytokine production and chromatin remodeling at the Th2 cytokine gene loci. *J. Biol. Chem.* 279:26983-26990 (2004).
  8. Shimizu, E., Koike, J., Wakao, H., Seino, K., Koseki, H., Kakiuchi, T., Nakayama, T., and Taniguchi, M.: Role of a NK receptor, KLRE-1, in bone marrow allograft rejection: analysis with KLRE-1 deficient mice. *Blood* 104:781-783 (2004).
  9. Yamashita, M., Shinnakasu, R., Nigo, Y., Kimura, M., Hasegawa, A., Taniguchi, M., and Nakayama, T.: Interleukin (IL)-4-independent maintenance of histone modification of the IL-4 gene loci in memory Th2 cells. *J. Biol. Chem.* 279:39454-39464 (2004).
  10. Nakai, Y., Iwabuchi, K., Fujii, S., Ishimori, N., Dashtsoodol, N., Watano, K., Mishima, T., Iwabuchi, C., Tanaka, S., Bezbradica, J. S., Nakayama, T., Taniguchi, M., Miyake, S., Yamamura, T., Kitabatake, A., Joyce, S., Van Kaer, L., and Onoe, K.: Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice. Short title: NKT cells and atherosclerosis in mice. *Blood* 104:2051-2059 (2004).
  11. Diao, H., Kon, S., Iwabuchi, K., Kimura, C., Morimoto, J., Ito, D., Segawa, T., Maeda, M., Hamuro, J., Nakayama, T., Taniguchi, M., Yagita, H., Van Kaer, L., Onoe, K., Denhardt, D., Rittling, S., and Uede, T.: Osteopontin as a mediator of NKT cell function in T cell-mediated liver diseases. *Immunity* 21:539-550 (2004).
  12. Katsumoto, T., Kimura, M., Yamashita, M., Hosokawa, H., Hashimoto, K., Hasegawa, A., Omori, M., Miyamoto, T., Taniguchi, M., and Nakayama, T.: STAT6-dependent differentiation and production of IL-5 and IL-13 in murine NK2 cells. *J. Immunol.* 173:4967-4975 (2004).

H. 知的所有権の出願・登録状況  
特になし

## 小児アレルギー性鼻炎に対する舌下減感作療法の有効性の検討

分担研究者：花澤 豊行 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科学・頭頸部腫瘍学講師

研究協力者：櫻井 大樹 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科学・頭頸部腫瘍学助手

米倉 修二 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科医員

### 研究要旨

小児アレルギー性鼻炎に対する舌下減感作療法の有効性について、小児ハウスダストアレルギー性鼻炎患者にハウスダストエキス、スギ花粉症患者に対してスギ花粉標準エキスを用いた検討を開始した。また、舌下減感作療法の作用機序を明らかにするためにダニの Derf1, スギ花粉の Cry-j1, Cry-j2 の class II T 細胞合成エピトープのカクテルを用いて特異的 IL-4, IL-5, IL-10, IFN- $\gamma$  産生 T 細胞の検出方法を確立した。成人ハウスダストアレルギー性鼻炎患者のダニ特異的 T 細胞の検討から IL-4 と IL-5 産生クローンサイズは異なった動態を示す可能性が示された。

### A. 研究目的

減感作療法は、アレルギー性鼻炎に対して根治の可能性のある唯一の治療法である。しかも、小児での奏効率は成人よりも高いといった指摘もある。しかし、現在国内で行われている抗原エキスの皮内注射による減感作療法は、通常注射の為医師のもとに最初の3-4ヶ月は週2回、さらにその後も頻回な通院が必要であること、注射部位の発赤・腫脹の出現、頻度は少ないがアナフィラキシー反応の出現の可能性といった大きな欠点があり、特に小児での普及は進んでおらず減感作療法を受ける患者の数は毎年減少している。一方、欧州では、抗原エキスを舌の裏面に投与する舌下減感作療法の有効性が認められ、保険診療として行われている。頻回な医師への通院は不要であり、さらにこれまでの報告では副作用は著しく軽減している。そこで、国内の主要アレルギーであるスギ花粉、ハウスダストを用いて小児アレルギー性鼻炎への舌下減感作療法の有効性を検討する。

また、減感作療法の奏効機序については遮断抗体の関与や調節性 T 細胞の誘導といった機序が想定されているが、詳細は明らかになってはいない。減感作療法の普及のためには、奏効機序の解明も不可欠である。そこで減感作療法施行中の症例から継時的な末梢血メモリー T 細胞クローンの推移から検討を行い、機序の解明に向けた検討を行う。詳細な T 細胞クローンサイズの検討はこれまで行われていない。

胞クローンサイズの検討はこれまで行われていない。

### B. 研究方法

保護者の同意を得た小児アレルギー性鼻炎患者に国内では皮内接種に用いられているスギ花粉標準化エキス、あるいはハウスダスト注射液を滴下したパン小片を舌裏面に含むことで投与する舌下減感作療法を実施し、その有効性を inactive placebo 投与群との二重盲検比較試験から検討する。2年目にはオープン試験として全例に抗原エキスの投与を行うことで保護者の同意を得る。有効性の評価は臨床症状、副作用発現の有無から行い、血中特異的 IgE 抗体及び他の免疫パラメーターを参考とする。

減感作療法の奏効機序については治療開始前と維持量になった時点、さらにその後継的に採血を行い末梢血リンパ球を凍結保存する。抗原刺激にはスギ抗原 Cry-j1, Cry-j2 から class II T 細胞合成エピトープのカクテル、ダニ抗原 Derf1, Derf2 から class II T 細胞合成エピトープのカクテルを用いる。いずれも class II 拘束性, DC4 拘束性で日本人患者の8割以上をカバーすることを確認した。末梢リンパ球をこれらのペプチドで刺激後、ELISPOT 法により抗原特異的 T 細胞クローンを検討する。

### 倫理面への配慮

小児の舌下減感作療法への参加については保護

者より同意を文書で得た。また、試験計画は千葉大学大学院医学研究院倫理委員会の承認を得て行われている。成人アレルギー性鼻炎患者からの血液検体の採取も同意を文書で得て行われた。

### C. 結果

小児舌下減感作療法については千葉大学大学院医学研究院の倫理審査委員会にて承認を受け、附属病院薬剤部で無菌下に点眼用瓶への詰め替え、必要に応じた希釈、inactive placebo の作製、盲検化への振り分けが行われ、実際の患者への投与が開始された。

スギ花粉症にて減感作療法を受けた小児の末梢血リンパ球からスギ花粉特異的な Th2 細胞クローンが検出された (図1)。しかし、IL-4 産生クローンと IL-5 産生クローンとは必ずしも一致しなかった (図2)。また、IL-10 を産生する抑制性 T 細胞クローンの出現をみる症例もみられた。

### D. 考察

小児アレルギー性鼻炎に対する舌下減感作療法を計画し、倫理委員会の承認後に投与が開始され、その有効性の検討を進める。減感作療法の奏効機序についての検討では T 細胞、B 細胞のみならず、肥満細胞など種々の細胞に影響を引き起こす可能性も示唆されているが、T 細胞クローンサイズの変動から IL-4 と IL-5 産生クローンサイズとは異なった動態を示す可能性があり、さらに IL-10 産生の調節性 T 細胞の影響についても示唆された。減感作療法は T 細胞、B 細胞のみならず肥満細胞など種々の細胞に影響を引き起こす可能性も示唆されているが、今後抗原特異的 T 細胞レベルでの変動と臨床症状、肥満細胞の応答性との関連について検討をすすめる。

### E. 結論

小児アレルギー性鼻炎に対する舌下減感作療法を開始した。減感作療法の奏効機序についての T 細胞クローンサイズの変動から検討を進めている。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

大塚雄一郎, 花澤豊行, 岡本美孝: 鼻炎とロイコトリエン アレルギー科 17:428-435,2004.

小林皇一: 花粉症の検査と診断の方法 からだの科学

235:50-52,2004.

櫻井大樹: 妊産婦の花粉症 からだの科学 235:62-63,2004.

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図1  
スギ特異的 Th2 クローンサイズ

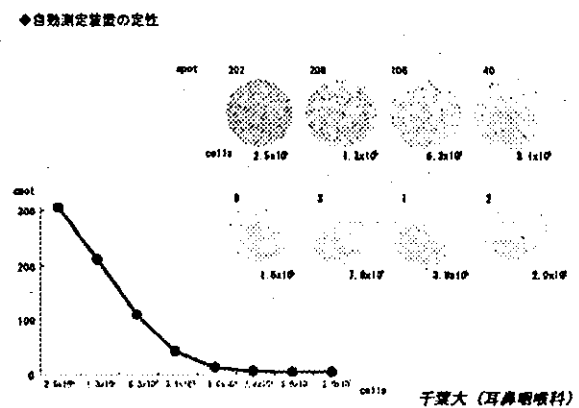
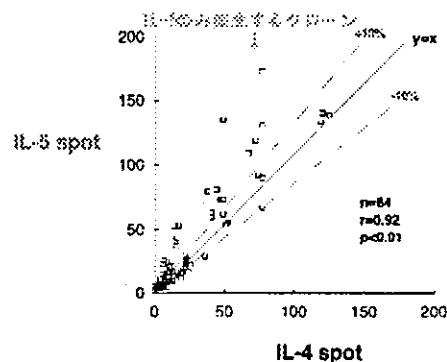


図2

ダニペプチド特異的  
IL-4 メモリー, IL-5 メモリーのクローンサイズ



(千葉大耳鼻科)

## 小児アレルギー性鼻炎：扁桃の免疫応答からの検討

分担研究者：堀口 茂俊 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科助手  
研究協力者：留守 卓也 千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉・頭頸部外科助手  
松岡 伴和 山梨大学医工学大学院耳鼻咽喉科助手  
工藤 典代 千葉県こども病院耳鼻咽喉科科長

### 研究要旨

上気道の代表的粘膜リンパ組織であり、小児期に活発な増殖を示す扁桃のアレルギー性鼻炎に対する影響を検討するため、小児扁桃のウイルスやアレルゲンに対する特異的免疫応答を検討した。その結果、小児扁桃中にはRSウイルスやインフルエンザウイルスに対するメモリーT細胞が末梢血に比較して著しく高い割合で存在していた。同時に末梢血にはみられない調節性T細胞も扁桃には認められた。扁桃は過剰な免疫応答の抑制作用を有する可能性がある。

### A. 研究目的

鼻は上気道の一部として外界と接し、種々のアレルゲンや微生物に常に曝露されている。特に小児では気道感染の罹患が成人に比べて非常に高いことが知られており、小児アレルギー性鼻炎の発症、治療、予防を検討する上で小児の上気道のアレルゲンと同時に微生物、なかでも急性上気道炎の原因の大半を占めるウイルスに対する免疫応答の検討も不可欠である。扁桃は、上気道に存在する代表的粘膜リンパ組織であり、小児期にその活動が盛んで増殖も5歳前後をピークとして認められる。しかしマウスで知られているNALTとは解剖学的のみならず機能的にも違いがあり、ヒト扁桃の作用は不明な点が多い。

本年度、小児扁桃におけるRSウイルス、インフルエンザウイルスといった小児の代表的気道感染ウイルス、ならびにダニやスギといった代表的アレルゲンに対する扁桃細胞の特異的免疫応答を検討した。

### B. 研究方法

手術により摘出した小児口蓋扁桃より扁桃リンパ球を分離し、RSウイルスのF糖タンパク、インフルエンザウイルスのM12抗原のそれぞれclass I拘束性の合成ペプチドを用いて刺激した。また、ダニ抗原についてはDerf1, Derf2のclass II拘束性合成ペプチドのカクテル、スギ抗原についてはCj1-1, Cj1-2のclass II拘束性合成ペプチドのカクテルを開いて刺

激を行った。これらの抗原ペプチドに対する特異的T細胞クローンの検出、解析はELISPOT法により行った。

### 倫理面への配慮

扁桃組織の採取、その研究利用は患者本人及び保護者の文書による同意を得て行われた。手術検体の研究利用は千葉大学大学院医学研究院倫理委員会の許可を得ている。

### C. 結果

RSウイルスやインフルエンザウイルスのclass I拘束性ペプチドを用いた検討では、扁桃にはTc1のみ検出されTc2は検出されなかった(図)。末梢血中ではTc1は非常に少なく特にRSウイルスに対するTc1はほとんど検出されなかった。一方、調節性と考えられるIL-10産生T細胞(Tr)は、末梢血にはいずれのウイルスに対するものも検出されず、他方扁桃には高いfrequencyで認められた。

ダニやスギ花粉のclass II拘束性合成ペプチドを用いた検討では、扁桃リンパ球にはアレルゲン特異的IL-4やIL-5などTh2クローンが検出された。末梢血と比較してクローンサイズは大きい、血中のアレルゲン特異IgE抗体との関連は不明であった。また、IL-4とIL-5のクローンサイズにも相関は認められなかった。

#### D. 考察

小児扁桃中にはRSウイルスやインフルエンザウイルスに対するメモリーT細胞の存在が比較的高い割合で認められた。血中にはこのウイルス特異的メモリーT細胞は少なく、特にRSウイルスでは検出限界以下であった。一方で調節性T細胞の存在も末梢血中には明らかではないが、扁桃にはその存在も確認された。このことは扁桃での過剰な免疫応答に抑制的に作用していることが推察された。

#### E. 結論

扁桃にはウイルスに対して高いCTLの誘導に作用したり、アレルゲンに対するTh2細胞と同時に過剰な免疫反応を抑制する調節性T細胞が多数存在している。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Horiguchi S, Okamoto Y, Chazono H, Sakurai D, Kobayashi K. Expression of membrane-bound CD23 in nasal mucosal B cells from patients with perennial allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2005 Feb;94(2):286-91.

堀口茂俊:メモリー・キラーT細胞の非リンパ組織局在の機序. *臨床免疫* 43(1):97-101,2005

##### 2. 学会発表

堀口茂俊, 茶菌英明, 留守卓也, 岡本美孝: 上気道ウイルスに特異的な細胞障害性T細胞(CTL)の扁桃局在 第22回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会,2004年3月,札幌

堀口茂俊: Th1/Th2バランスからみた鼻アレルギー 第16回日本アレルギー学会春期臨床大会教育セミナー, 2004年5月,前橋

留守卓也, 堀口茂俊, 茶菌英明, 岡本美孝: 扁桃におけるウイルス特異的T細胞の検討, 第17回日本口腔・咽頭科学会,2004年9月,神戸

堀口茂俊: 鼻アレルギー病態形成因子と治療戦略ミT細胞の検討から- 第43回日本鼻科学会基礎問題研究会シンポジウム 2004年9月,東京

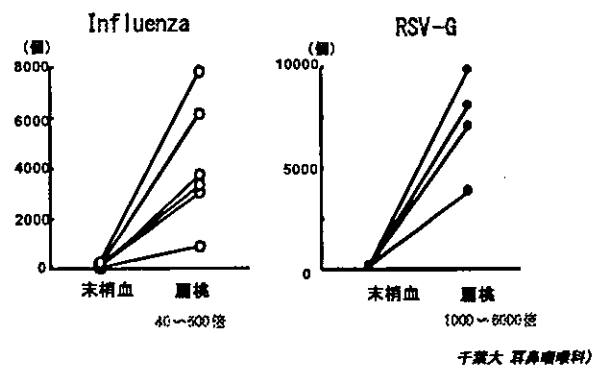
堀口茂俊, 茶菌英明, 留守卓也, 岡本美孝: スギ花粉症患者のメモリー維持に関する検討 第54回日本アレルギー学会総会 2004年11月,横浜

堀口茂俊:スギ花粉症患者のメモリー維持に関する検討 第23回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会.2005年3月,岡山

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

図

末梢血と扁桃における特異的IFN $\gamma$ 産生細胞頻度  
(CD8陽性細胞100万個あたり)



## 減感作治療を行ったアレルギー性鼻炎患者の長期の症状推移、他の抗原によるアレルギー発症の有無、喘息の発症の有無に関する追跡調査研究

主任研究者 岡本美孝 千葉大学大学院耳鼻咽喉科頭頸部腫瘍教授

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頭頸部外科教授

研究協力者 松崎全成 山梨大学大学院医学工学総合研究部耳鼻咽喉科頭頸部外科講師

松岡伴和 山梨大学大学院医学工学総合研究部耳鼻咽喉科頭頸部外科助手

遠藤周一郎 山梨大学医学部耳鼻咽喉科頭頸部外科助手

### 研究要旨

減感作治療は現在唯一治療が期待できる治療法である。また、喘息など他のアレルギー疾患の発症を予防できる可能性をもっている。今回の研究では、アレルギー性鼻炎で減感作治療を行った症例の追跡調査を行い、症状の改善効果やその他のアレルギー疾患の発症の有無、他抗原感作の有無について検討した。長期減感作治療を行っている症例の予後は良好で、症状別では鼻閉への効果が高かった。小児期に喘鳴を認めた症例では減感作治療後に消失し、減感作治療後に喘息やアトピー性皮膚炎の新たな発症は認めなかったが、口腔アレルギー症候群は不変かつ新たな発症を認めた例があった。

### A 研究目的

アレルギー性鼻炎は喘息と合併することが多く、喘息発症の危険因子でありその治療が喘息症状の改善に寄与したり、喘息発症の予防にもつながる可能性があり、one airway, one disease として捉えて鼻炎の治療の重要性がWHOにより提唱されている。さて、減感作療法は、現在のところアレルギー性鼻炎を治癒させる可能性をもつ唯一の治療法であり、患者個人の免疫状態を変容させる可能性がある。今回、減感作治療施行がその他のアレルギー疾患の発症や症状の改善に影響しているかどうか検討を行った。

### B 方法

アレルギー性鼻炎で減感作療法を受けた患者を対象に、アンケート調査を施行した。内容は、減感作療法の試行期間、効果、症状の再発、最近の鼻症状とその程度、喘息やアトピー性皮膚炎の症状の有無について調査した。

### C 結果

53 症例にアンケートを依頼し 35 症例より回答が得られた (回収率 66%)。年齢は 14 歳-78 歳で平均年齢 44 歳である。治療期間：3 年未満 14 例、3-5 年 7 例、6-9 年 8 例、10 年以上 6 例であった。平均治療年数 5.5 年。減感作に用いた抗原の種類は、ハウスダスト 13 例、スギ 32 例、ヨモギ 4 例、ブタクサ 4 例、カモガヤ 5 例 (重複あり)。使用抗原の種類：1 種類 15 例、2 種類 17 例、3 種類 3 例であった。スギとハウスダストの 2 種類での減感

作症例が 10 例であった。減感作治療のハウスダスト単独症例は 1 例のみで、他の 12 例はスギ (11 例)、ブタクサ (2 例) との併用減感作治療であった。効果については、とてもあった 20 例 (57%)、少しあった 10 例 (29%)、なかった 2 例、不明 3 例であった。治療期間別に効果をみると、3 年未満 (14 例) ではとてもあった 2 例 (14%)、少しあった 7 例、なかった 2 例、不明 3 例であった。一方、3 年以上 (21 例) では、効果がとてもあった 18 例 (86%)、少しあった 3 例で、すべての症例で何らかの効果が認められた。再発は 4 例 (11%) でいずれも注射期間が 3 年未満の症例であった。現在の鼻症状については、ほとんどない 8 例、1 年中ある 8 例、春のみ 6 例、春と秋 6 例、春、夏、秋 2 例、春、冬 2 例、その他 3 例であった。症状別では、くしゃみ、鼻汁 (23%) に比べ、鼻閉 (51%) の消失率が高かった。小児期の喘鳴 (7 例)、アトピー性皮膚炎 (5 例) の減感作治療後の経過は、喘鳴は全例なし、アトピー性皮膚炎は 4 例減感作治療後も認められている。減感作治療後の、喘息、アトピー性皮膚炎、口腔アレルギー症候群の症状の推移については、喘息、アトピー性皮膚炎が消失あるいは軽くなったと答えた方が 1 例ずつ認められたが、口腔アレルギー症候群については、減感作治療後も治療前に認めた 5 例全員が治療後も不変であった。原因果物はメロン、キウイ、パイナップル、モモ、サクランボ、リンゴであった。また、1 例は減感作治療後にリンゴ、モモ、ナシ、ビワで症状が出現した。

#### D 考察

今回のアンケートではスギ花粉症の減感作治療症例が多数を占めたため、小児期から減感作治療を開始した症例はほとんど含まれていなかった。しかしながら、スギ単独症例以外では、スギとハウスダストを重複して持っている症例が多く、小児期より通年性の症状を有している症例である。ハウスダストとスギで9歳より減感作治療を行った症例では、合併していた喘息は減感作により軽快がみられている。減感作治療の効果は、3年以上継続して行っている症例のほうが3年未満の症例より優れていた。症状消失例も存在し(23%)、減感作療法の長期的予後は優れている。喘息(喘鳴7例)、アトピー性皮膚炎(4例)などその他のアレルギー疾患の合併率は低く、今回の検討では減感作療法により他のアレルギー疾患の発症が抑えられるかどうかについてはさらなる検討が必要である。また、新たな吸入抗原への感作は認めなかったが、口腔アレルギー症候群を引き起こす果物抗原については減感作の効果は認められず、逆に新たに口腔アレルギー症候群が発症した症例もみられた。

#### E 結論

減感作療法は長期的にはアレルギー性鼻炎の治療に有用である。減感作療法により喘息が軽快する症例を認め、かつ喘息やアトピー性皮膚炎の新たな発症はなかった。また、新たな吸入抗原への感作は認めなかったが、食物抗原によるアレルギー症状の改善および食物抗原の感作は防止できない可能性が示唆された。ハウスダストアレルギー症例の自然寛解例では抗原特異的IL-4、IL-5産生T細胞クローンの減少を認めており、今後減感作療法によるTh2クローンおよびTregの変動を検討する予定である。

#### G 研究発表

##### 1. 論文発表

増山敬祐：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。2. 花粉症治療の選択法。Progress in Medicine 23: 3174-3178, 2003.

増山敬祐：ステロイド剤の薬物療法 花粉症・アレルギー性鼻炎。薬局 54: 25-33, 2003.

増山敬祐：病態に則した診断へのアプローチ 2.

アレルギー性鼻炎。日本内科学会雑誌 93: 12-18, 2004.

Masuyama, K.: Treatment options for children with allergic rhinitis. Clin Exp All Rev 4:27-29, 2004

##### 2. 学会発表

高橋吾郎、松崎全成、増山敬祐：インターネット鼻アレルギー日記(第1報)。第53回日本アレルギー学会総会、2003

松岡伴和、松崎全成、高橋吾郎、堀口茂俊、岡本美孝、増山敬祐：ダニアレルギー性鼻炎患者の抗原特異的サイトカイン産生細胞の検討。第16回日本アレルギー学会春季臨床大会、2004

松岡伴和、松崎全成、高橋吾郎、増山敬祐、他：ダニアレルギー性鼻炎患者の抗原特異的サイトカイン産生細胞の検討2。第54回日本アレルギー学会総会、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

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

著者名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okamoto.Y., Sakurai.D., Horiguchi.S.	Allergic rhinitis in children: environmental factors	<i>Clin Exp All rev</i>	4	9-14	2004
Horiguchi.S., Okamoto.Y., Chazono.H., Sakurai.D	Expression of membrane-bound CD23 in nasal B cells from patients with perennial allergic rhinitis	<i>Annals of Allergy, Asthma and Immunology</i>	94	286-291	2005
Yokoo.E., Yatomi.Y., Takafuta.T., Osada.M., Okamoto.Y., Ozaki.Y.	Sphingosine 1-phosphate inhibits migration of RBL-2H3 cells via SIP2: cross-talk between platelets and mast cells	<i>The Journal of Biochemistry</i>	135	673-681	2004
大久保公裕	小児アレルギー性鼻炎(花粉症)の長期予後	アレルギー・免疫	11	72-77	2004
Okubo.K., Gotoh.M., Okuda.M.	Prevalence of Japanese cedar pollinosis in children aged under 15 years throughout Japan	<i>Clin Exp All Rev</i>	4	31-34	2004
Shimojo.N., Suzuki.S., Tomiita.M., Inoue.Y., Nakano.K., Kohno.Y.	Allergic rhinitis in children: association with asthma	<i>Clin Exp All Rev</i>	4	21-25	2004
島 正之	小児スギ花粉症の有症率、感作率の年次推移と今後の展望	アレルギー科	19	19-25	2005
Inami, M., Yamashita, M., Tenda, Y., Hasegawa, A., Kimura, M., Hashimoto, K., Seki, N., Taniguchi, M., and Nakayama, T.	CD28 costimulation controls histone hyperacetylation of the IL-5 gene locus in developing Th2 cells.	<i>J. Biol. Chem.</i>	279	23123-23133	2004
Yamashita, M., Ukai-Tadenuma, M., Miyamoto, T., Sugaya, K., Hosokawa, H., Hasegawa, A., Kimura, M., Taniguchi, M., DeGregori, J., and Nakayama, T.	Essential role of GATA3 for the maintenance of Type 2 helper T (Th2) cytokine production and chromatin remodeling at the Th2 cytokine gene loci.	<i>J. Biol. Chem.</i>	279	26983-26990	2004
Yamashita, M., Shinnakasu, R., Nigo, Y., Kimura, M., Hasegawa, A., Taniguchi, M., and Nakayama, T.	Interleukin (IL)-4-independent maintenance of histone modification of the IL-4 gene loci in memory Th2 cells.	<i>J. Biol. Chem.</i>	279	39454-39464	2004
Masuyama, K.	Treatment options for children with allergic rhinitis	<i>Clin Exp All Rev</i>	4	27-29	2004
Okamoto.Y., Matsuzaki.Z., Matsuoka.T., Horiguchi.S	Influence of viral infection on the development of nasal hypersensitivity	<i>Clinical and Experimental Allergy</i>		in press	



## Allergic rhinitis in children: environmental factors

Y. Okamoto, D. Sakurai and S. Horiguchi

Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan

### Summary

Increasing numbers of patients with allergic rhinitis are being noted on a global scale. Over 90% of Japanese patients with perennial allergic rhinitis show allergic reaction to the mite antigen and major pollen allergens such as Japanese cedar and Japanese cypress, which are carried long distances (> 100 km) by wind and hence can produce substantial harmful effects even in metropolitan areas. This situation is distinct from that in the West, where the most common anemophilous allergen, ragweed, travels much shorter distances of up to only several hundred metres. Environmental factors such as increased antigen, air pollution, diet, intestinal microflora, decreased incidence of infections, smoking, breastfeeding and vaccination may play important roles in the development and manifestation of allergic rhinitis in genetically predisposed subjects. In particular, in newborn infants, who carry the Th2 predominant state, environmental factors may greatly affect the development of balanced production of Th1 and Th2 cytokines. However, the contribution of any environmental factor to the postnatal development of allergic rhinitis has not been sufficiently determined. A better understanding of the processes involved may lead directly to better treatment or cure of allergic rhinitis.

**Keywords** air pollution, allergen, allergic rhinitis, dietary lifestyle, environmental factors, hygiene theory, intestinal microflora, parasite, tuberculin reaction, viral infection

### Introduction

In recent years, many countries have experienced the problem of increasing prevalence of nasal allergy, with >90% of patients with perennial allergic rhinitis showing allergic reaction to mite antigens [1]. The major pollinosis allergens in Japan are tree pollens such as sun tree (Japanese cypress) and evergreen tree (Japanese cedar), which can spread > 100 km from source and hence affect people living in metropolitan areas. This situation is distinct from that in the West, where the most common allergen is ragweed, which travels shorter distances of up to several hundred metres. Japanese cypress is widely distributed in Japan, predominantly to the west of the Kanto (Tokyo surrounding) region. Cedar pollen and cypress pollen share a common antigen and >70% of Japanese patients with cedar pollen allergy also develop cypress pollinosis [1].

Although a well-controlled epidemiological study has yet to be conducted in Japan, questionnaire-based data suggest that cedar/cypress pollen allergy has a prevalence of 10–20/

100 people nationwide. This figure varies considerably among the regions of the country, being lower than average in Hokkaido and Okinawa to the far north and far south, respectively [2, 3].

The age distribution curve of nasal allergy patients exhibits a bimodal pattern with two peaks: at ages 20s–40s affecting predominantly females and at approximately 10 years where males are more affected. It is generally regarded that the onset of perennial nasal allergy due to mite antigens begins in children and that of pollinosis is seen mainly in adult females. Recently, however, the age of onset of pollinosis appears to be decreasing.

A recent report by the Japan Ministry of Health, Welfare and Labor [4] has shown an increasing trend in the annual prevalence rate of allergic rhinitis among infants and children (Fig. 1). Furthermore, scratch tests of Japanese schoolchildren with nasal allergy indicate that besides mite antigens, children are also sensitized at high rates with many other allergens including Japanese cedar, cypress, orchard grass and ragweed pollen [3].

About 7% of patients with Japanese cedar pollinosis show spontaneous resolution of allergic reaction within a 10-year period after the onset of symptoms; elderly patients with initial symptoms after age 50 years are more likely to undergo spontaneous regression, whereas younger patients may not [5].

Correspondence: Dr Yoshitaka Okamoto, Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University, 1-8-1 Inohana, Chuoh-ku, Chiba, 260-8670, Japan. E-mail: yoka-chiba@k4.dion.ne.jp

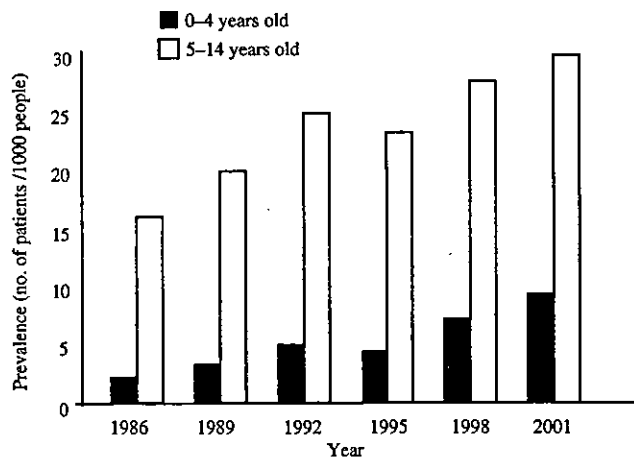


Fig. 1. Prevalence of allergic rhinitis (number of patients/1000 people) in Japanese children. Data from the Japan Ministry of Health, Welfare and Labor [4].

### Onset of allergic rhinitis

As is seen with many other diseases, both genetic and environmental factors appear to be involved in the onset of allergic rhinitis. It is well known that family history is relevant to the onset of nasal allergy. For example, among identical twins concurrent onset is seen at high rates [6]. Furthermore, recent progress in genetic analysis has revealed the presence of genes regulating reactivity to leukotrienes [7] as well as cytokine-producing ability, both of which are involved in allergic responses. However, environmental factors appear to play a major aetiological role as even among identical twins the influence of genetic factors is calculated at < 70%, and nasal allergy prevalence rates are known to increase among immigrant populations moving from developing to developed countries. At least one report has stated that environmental factors play the most important role in the recent increase of allergic diseases [8].

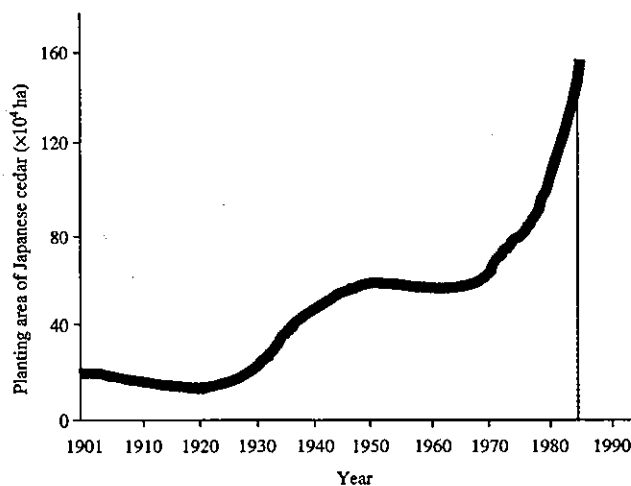


Fig. 2. Planting area of Japanese cedar aged > 30 years.

Table 1. Time-course of number of mites in house dust in Japan

Year	No. of mites (per g house dust)
1964	600
1976	1100
1983	1250

### Environmental factors

#### Increase of allergens

Levels of environmental allergens are rising. In Japan, the amount of airborne Japanese cedar pollens has increased dramatically; after World War II, an extensive afforestation programme with Japanese cedar was initiated because of the fast growth rate of this species and its value as a building material. Figure 2 shows the planting area of Japanese cedar aged > 30 years, which produces the most pollen [9]. In addition, mites have also increased vastly in number in Japan (Table 1) due to the extensive use of concrete for houses, which provides high humidity and favourable temperatures for propagation [10].

#### Air pollution

Air pollution due to ozone, nitrogen oxides and sulphur oxides has been pointed out as contributing to morbidity due to allergic rhinitis [11–14]. Although not implicated directly in the development or enhancement of allergic sensitization, these environmental factors have been shown to aggravate allergic symptoms. More recently, discharge of diesel exhaust particles (DEP) from automobiles, rather than industrial soot and smoke, has attracted particular attention following reports that DEP challenge can lead to overproduction of IgE and increased permeability of the nasal mucosa membrane [15, 16]. Binding of DEP to cedar pollen grains during their long-distance travel has also been observed and may contribute to the promotion of cedar-specific IgE production.

#### Change of dietary lifestyle and intestinal microflora

Recently, consumption of fish rich in n-3 polyunsaturated fatty acid has been decreasing in Japan, whereas that of meat containing high amounts of n-6 polyunsaturated fatty acid is increasing [17]. Some studies have suggested that administration of n-3 polyunsaturated fatty acid improves symptoms in Japanese children with asthma [18]. However, the benefits of this treatment in allergic rhinitis have not been elucidated.

Lifestyle changes in diet tending towards high protein and fat intake also greatly affect the intestinal microflora, which in turn has significant effects on the body's immune reactions. For example, in germfree mice lacking intestinal microflora, IgE production was accelerated, whereas on normalization of intestinal bacterial flora IgE production was restored [19]. Another interesting study of the human

intestinal microflora reports that in Estonia, where the allergy prevalence rate is low, the human intestinal microflora mainly consists of eubacteria and enterococci [20]. However, in Sweden where high allergy prevalence is observed, the microflora comprises mainly *Bacteroides* and *Clostridium* species whereas 35 years ago both the microflora and prevalence were similar to those currently seen in Estonia [20]. This suggests that increases in allergy prevalence in Sweden may reflect changes in gut microflora.

#### Infectious diseases

Infectious diseases may also play a role in the aetiology of allergic rhinitis. Th2 cytokines such as interleukin (IL)-4 and IL-5 are involved in the stimulation of IgE production as well as migration and activation of eosinophil leucocytes and mast cells. On the other hand, the Th1 cytokines interferon (IFN)- $\gamma$  and IL-2 assist in the activation of monocytes and cellular immunity. Many allergic patients exhibit dysregulated production of Th1 and Th2 cytokines, exhibiting predominant Th2 cytokines imbalance. Tuberculosis is a typical infectious disease that induces Th1 cytokine production; among representative diseases capable of activating the Th2 system, parasitic infections such as helminth infection are examples. Relating to this, there have been a number of reports suggesting that modern decreases in helminthiasis may have had a direct causative role in the rise of allergic diseases [21–23].

#### Parasite infection

To clarify the relationship between intestinal parasite infection and allergic rhinitis, we examined high-school students in Ecuador where parasitic infections are common. Clinical history, nasal inspection, eosinophilia in nasal discharge, skin scratch testing and measurement of antihouse dust (HD)-specific IgE and total IgE levels in serum were recorded. Parasitological evaluation included examination of stool samples and quantification of specific anti-ascaris IgE levels in serum. Figure 3 shows the incidence of nasal allergy and detection rate of parasite infection. Students with helminths in stool samples demonstrated significantly lower incidence rates of HD allergic rhinitis than those with protozoan infections. Although this would seem to indicate that helminthic infection may protect against the development of allergic rhinitis and that protozoan infection may promote this allergy, there was a significant correlation between anti-HD IgE and anti-ascaris IgE ( $r=0.615$ ,  $P<0.01$ ) (Fig. 4). Antihelminthiasis IgE is thought to participate in elimination of helminths. Allergic patients had Th1/Th2 cytokines imbalance resulting in Th2 predominance; hence, when infected, patients with allergic rhinitis produced substantially higher levels of antihelminth IgE compared with those without rhinitis. This IgE production may persist for some period to prevent chronic infection or reinfection. The rate of positive skin scratch tests for HD in students with serum anti-HD

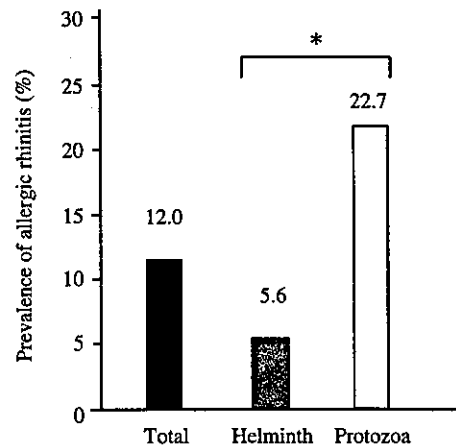


Fig. 3. Prevalence of allergic rhinitis in children with parasitic infection. Children exhibiting parasites in stool demonstrate significantly lower incidence rates of house dust allergic rhinitis than those with protozoan infections. \* $P<0.05$ .

IgE antibody showed no significant difference when comparing skin test results stratified by total IgE levels (data not shown), suggesting that even with high concentration of total serum IgE, the allergen-specific antibody is able to bind to its specific Fc receptor on mast cells, indicating a nonsaturated state. In our study, evidence for helminthic infection affecting the development of HD allergic rhinitis was inconclusive.

#### Tuberculin reaction and BCG vaccination

Shirakawa et al. [24] studied the relationship between tuberculin reactions and allergic reactions by comparing the same cohort of Japanese junior high-school students at ages 6 and 12 years. Students who had negative response to tuberculin test at both 6 and 12 years of age showed significantly high prevalence rates of nasal allergy and asthma as well as high IgE values in blood as compared to those who were positive. This leads to the possibility that the recent decrease in tuberculosis infection may have

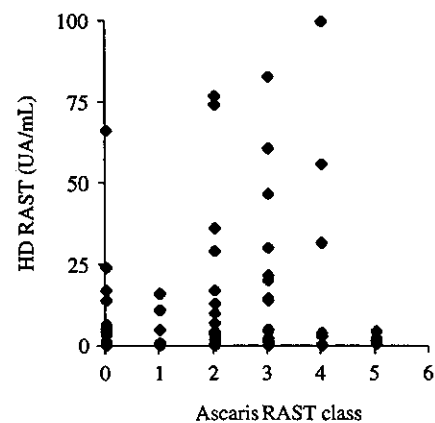


Fig. 4. Relationship between antihouse dust IgE and anti-ascaris IgE. A significant correlation ( $r=0.615$ ,  $P<0.01$ ) between anti-HD IgE RAST and anti-ascaris IgE scores is seen.

caused the high prevalence of allergic disease. However, the relationship between the tuberculin reaction and prevalence of allergic rhinitis remains controversial [25–28]. BCG vaccine is known to strongly induce Th1 cytokines and some studies have suggested that administration of BCG vaccine might reduce IgE levels of patients, including those with allergic rhinitis [29, 30]. However, it is not clear whether BCG vaccine-induced strong Th1 response in patients in whom Th2-dominant immune deviation has been established is able to improve their allergy symptoms.

#### Viral infection

The nasal cavity, the most frontal part of respiratory tract, is often the target of viral infection, although no relationship between such infections and allergic rhinitis has been defined [31, 32]. The common cold is the most widespread viral infection, usually induced by rhinovirus, parainfluenza virus, adenovirus and respiratory syncytial virus (RSV) [33]. We examined histamine sensitivity, defined as the lowest intranasally administered histamine concentration needed to induce sneezing attack in nonatopic patients with the common cold. During the early 3–4 days of common cold, increased nasal sensitivity to histamine was observed; however, this hypersensitivity was transient and returned to baseline values several days later. Histamine concentration of nasal wash in both the acute phase and convalescent phase of these patients showed no significant difference. Thus common cold induces transient nasal hypersensitivity that is not correlated with histamine concentration.

The mechanism of hypersensitivity to viral infection includes impairment and shedding of epithelial cells and concomitant exposure of sensory nerve endings [34]. In addition, viral infection may directly affect the nasal mucosal immunity. After RSV inoculation of isolated human nasal epithelial cells *in vitro*, both enhanced production of IL-6 and GM-CSF and increased ICAM-1 mRNA expression were observed [35]. Furthermore, tonsillar cells adherent to RSV-infected nasal epithelial cells produced more IL-4 than nonadherent cells (Fig. 5). However, no significant difference was observed for IFN- $\gamma$  production in these tonsillar cells.

In another study, BALB/c mice were infected intranasally with RSV then treated with ovalbumin (OVA) by nebulizer, and the antibody response to OVA determined [36]. IgG anti-OVA antibody was significantly higher in RSV-infected than control mice, and furthermore IgE anti-OVA antibody, although in low concentrations, was detected only in the infected animals (Fig. 6). Thus RSV infection may augment the antibody responses including IgE to inhaled antigens. To examine further the influence of RSV infection in OVA-sensitized mice, B6 mice were sensitized with OVA administered intraperitoneally followed by intranasal infection with RSV (manuscript in preparation). Three days later, nasal sensitivity to OVA and to histamine was examined. Nasal rubbing attacks in response to both OVA and histamine challenge were

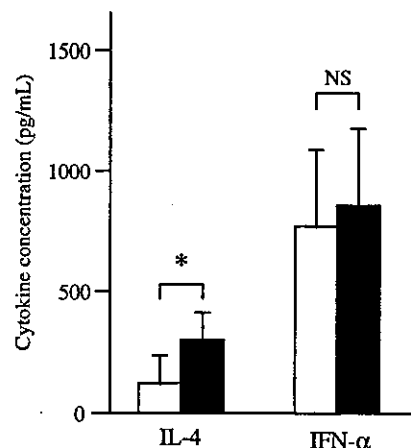


Fig. 5. Cytokine levels in tonsillar lymphocyte culture not bound (□) and bound (■) to RSV-infected nasal epithelial cells. Tonsillar cells adherent to RSV-infected nasal epithelial cells produced more IL-4 but not IFN- $\gamma$  compared with nonadherent cells. \* $P < 0.05$ . Reprinted with kind permission of Blackwell Publishing from Matsuzaki et al. [35].

enhanced dramatically in RSV-infected mice compared with noninfected mice (Fig. 7). The eosinophil number in the nasal mucosa was also highly increased in RSV-infected animals. Thus acute viral infections enhance the responses to subsequent OVA sensitization as well as strongly enhancing the sensitivity of prior-sensitized mice.

#### The hygiene theory

The hygiene theory propounds that decreases in infections acquired during early childhood may be responsible for the increasing prevalence of allergic diseases in the population [37]. In support of the theory, the frequency of several allergic diseases including allergic rhinitis has been shown to be inversely associated not only with childhood infections [38, 39] but also with the number of siblings [40, 41]. The presence of older siblings naturally exposes children to more infections during early childhood and protects

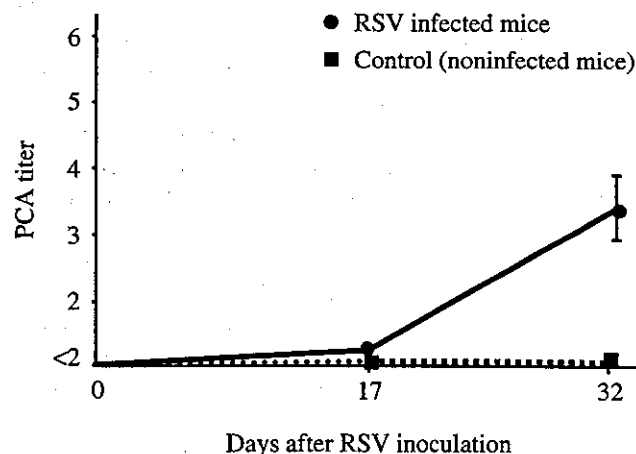


Fig. 6. Detection of IgE anti-OVA antibody in BALB/c mice intranasally infected or sham-infected with RSV then treated with OVA. Reprinted with kind permission of the Society for Experimental Biology and Medicine from Freilhorst et al. [36].