

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）
（総合）研究報告書

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.

吉田博一：口内錠を用いたスギ花粉症に対する舌下免疫療法の検討. 那須ティーン.2004.7・吉田博一、白坂邦隆、馬場廣太郎：スギ花粉症に対する舌下免疫療法の試み. 第9回日耳鼻地方部会北関東連合会.2004.9.

吉田博一、白坂邦隆、池田 拓、今野 渉、内藤文明、小泉さおり、馬場廣太郎：口内錠を用いたスギ花粉症に対する舌下免疫療法の検討. 第43回日本鼻科学会.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

花粉症の薬物併用療法のQOLに与える影響の研究

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：中等症以上のスギ花粉症の患者に、第2世代抗ヒスタミン薬と局所ステロイド薬の併用療法を施行し、病型、重症度にかかわらず、優れた効果が得られた。花粉症治療に対する患者満足度を向上させるためには、薬理作用の異なる薬剤の併用療法に関するデータの蓄積が必要である。また、各種治療法の評価法としてT細胞機能に関する評価法を考案した。

A. 研究目的

1. 花粉症の治療薬には作用機序の異なる薬剤がいくつか開発されているが、患者は現状治療に満足していないものが多く、より有効な治療法に関するエビデンスの提出が望まれる。今回、中等症以上の花粉症患者を対象に、第2世代抗ヒスタミン薬と局所ステロイド薬併用療法による鼻症状と眼症状の改善効果ならびにQOLに与える影響を評価した。

2. 次に、各種花粉症治療の新しい評価法として、患者の末梢血を用いてスギ花粉特異的T細胞クローンサイズ（Th1/Th2）を評価する方法を確立した。

B. 方法

1. 対象は20歳以上のスギ花粉症患者とし、中等症以上のものとした。オープン法により、塩酸フェキソフェナジンを1日2回経口投与しかつプロピオン酸フルチカゾン点鼻液を1日2回併用投与した。試験期間は2週間とした。有効性評価には鼻症状、鼻所見、QOLの評価を行なった。QOLの評価は、「鼻炎と結膜炎患者のクオリティー・オブ・ライフ（生活の質）調査票（RQLQ）」、「日本アレルギー性鼻炎標準QOL調査票（JRQLQ）」、「日常生活に及ぼす影響の調査

アレルギー編（WPAI-AS）」を使用した。

2. スギ花粉症患者末梢血から単核球を分離し、3時間6穴プレートにて培養し、付着細胞と浮遊細胞を分離した。付着細胞より樹状細胞を誘導し、浮遊細胞とスギ抗原をovernightで培養し、IL-4、IFN- γ 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した。

C. 結果

1. 1) 塩酸フェキソフェナジンとプロピオン酸フルチカゾン点鼻液の併用により、鼻症状、眼症状および日常生活の支障度はいずれも有意な改善を示した。また、鼻症状の合計スコア（TSS）は、重症度、くしゃみ・鼻漏と鼻閉・充全型の病型にかかわらず投与1日目から有意に低下した。2) 投与後RQLQ, JRQLQの各スコア、およびWPAI-ASの労働関連スコアは、投与前に比していずれのドメインも重症度に関わりなく有意に改善した。3) 副作用の発現頻度は158例中4例（2.5%）で、重篤な副作用は見られなかった。

2. 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。

D. 考察

1. 花粉症患者が症状が増悪することなくシーズンを乗り切るために、近年では本格飛散開始前からの初期療法が推奨されている。しかしながら、本格飛散期になり症状が重症化してから治療を開始する患者も多く、こうした患者では1日でも早く十分な効果に達し、鼻症状、眼症状やQOLのすべてに対し優れた効果が得られしかも副作用のない適切な治療法を選択する必要がある。

スギ花粉症の飛散期では即時相のみでなく遅発相の反応も起こっており、主に即時相に有効な第2世代抗ヒスタミン薬と遅発相に有効な局所ステロイド薬の併用療法は理にかなった治療法と考えられるが、併用療法が必ずしも多くの患者において優れた臨床効果を示すとは限らず、臨床的なエビデンスが重要である。

今回、中等症以上の花粉症患者に対する第2世代抗ヒスタミン薬と局所ステロイド薬の併用療法の有効性を評価した結果、併用療法により投与1日目より鼻症状の改善が認められ、投与3日目にはほぼ最大効果に到達した。2週間の投与で鼻症状に対する有効性ととともに眼症状、RQLQ、JRQLQおよびWPAI-ASの改善を認めた。さらにこれらの改善効果がくしゃみ・鼻漏型、鼻閉・充全型の病型、重症度に関わらず同様に認められたことは、中等症以上の花粉症の飛散期治療として、第2世代抗ヒスタミン薬と局所ステロイド薬の併用療法が第一選択となる可能性が示唆された。

2. スギ抗原特異的T細胞クローンは未治療の患者でTh2優位であることが確認された。今後、この方法はT細胞クローンサイズの変動を検討することにより、免疫療法を含め各種治療法のT細胞機能の新しい評価法とな

りうる可能性があると考えられる。

E. 結論

中等症以上の花粉症患者において、第2世代抗ヒスタミン薬と局所ステロイド薬の併用療法は、病型・重症度にかかわらず優れた効果を示し、かつ安全性の面からも有効な治療手段である。今後、厳格な比較試験、相加・相乗作用などの研究を進め、患者満足度の高い併用療法のエビデンスを確立していく必要がある。

また、スギ抗原特異的T細胞クローンサイズを評価する新しい方法を確立した。

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

増山敬祐：薬物療法・選択基準。新しい診断と治療のABC 12。アレルギー性鼻炎。最新医学別冊154-161, 2003.

増山敬祐：アレルギー性鼻炎における薬物療法。Medico 34: 4-7, 2003.

増山敬祐：アレルギー性鼻炎の治療におけるステロイドの功罪。治療学 37: 55-58, 2003.

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

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.

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2報）。第16回日本アレルギー学会春季臨床大会、2004

松岡伴和、堀口茂俊、松崎全成、高橋吾郎、初鹿恭介、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細胞の検討。第43回日本鼻科学会、2004

高橋吾郎、松崎全成、増山敬祐：リアルタイム花粉モニターを用いた花粉観測～甲府

市郊外での観測～。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

花粉症の自然史とスギ特異的T細胞の検出に関する研究

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 千葉大学医学部附属病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科助手

研究要旨：アレルギー性鼻炎に対する住民検診を利用した10年間のスギ花粉症の経過の検討から、スギ特異的IgE値は中高年においても低下は明らかではなく、感作者の発症率はむしろ増加を示した。今後は中高年においてもスギ花粉症患者の発症が増加すると考えられる。一方、スギ花粉に特異的なT細胞のsubpopulationの検出についてELISPOT法により確立した。本法による検討からスギ花粉症患者の血中CD4陽性細胞中のスギ花粉特異的IL-4クローンの定量的解析を行ったところ、血中全Th2細胞とは相関しないもののスギ花粉特異的IgE値とは相関を認め、スギ花粉特異的T細胞subpopulationの検討は病態解析、治療法の開発に有効な情報を提供すると考えられる。また、スギ花粉症患者に対する抗ヒスタミン薬の内服と点鼻ステロイド薬の併用はくしゃみ・鼻漏型のみならず、鼻閉・充全型も含め病型を問わずQOLを有意に改善し花粉症治療の基本的薬物治療になり得ると考えられる。

A. 研究目的

患者の増加が問題となっている花粉症の新治療法の開発及びQOLからみた各種治療法の評価として以下のことを明らかにすることを目的とした検討を行った。すなわち、
(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を直接計測する方法を開発し、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) スギ花粉症にて医療機関を受診する患者のほとんどは重症、最重症であるが、鼻アレルギー診療ガイドラインではこれらの患者に対して併用療法を推奨している。しかし、スギ花粉症に対する併用療法の有効性の検証はほとんど行われていない。くしゃみ・鼻漏型で重症症例に対して併用が推

奨されている抗ヒスタミン内服薬と点鼻ステロイド薬について有効性を明らかにする。
(5) 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) 千葉県房総半島南端に位置する安房郡丸山町における鼻アレルギーの住民検診をスギ、ヒノキ花粉の飛散が終了した1ヶ月後の6月初旬に毎年行った。特に職業上から転職などによる移動の少ない中高年を対象に1995年からの縦断的検討を行い、感作率、有症率についての変動を明らかにした。

(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。また、同意の得られたスギ花粉症患者22名を対象に年間を通じて定期的に採血を行い、血中のスギ特異的IgE値と血中リンパ球のtotal Th1細胞、Th2細胞のflow cytometryによる解析、スギ花粉Crj 1抗原ペプチドに対する特異的Th1細胞、Th2細胞、調節性T細胞のELISPOT法による解析からこれらの年間変動について検討を行った。

(3) 病院や診療所を受診するスギ花粉症のほとんどは中等症、重症、最重症の患者と考えられる。これらの患者の治療法として鼻アレルギー診療ガイドラインで推奨されている抗ヒスタミン薬と点鼻ステロイド薬の併用療法についてその有効性を各種QOL調査票ならびにアレルギー日記の症状スコアの変化から、千葉大ならびに関連病院を受診し同意が得られたスギ花粉症患者を対象に検討した。

(4) 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、10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。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- α 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。また、スギ花粉症患者の血中total Th2細胞（スギ花粉非特異的）は、年間を通じて有意な変動傾向は認められなかった。一方、スギ花粉Crj 1ペプチド特異的Th2細胞の定量的解析をELISPOT法により確立した。本法を用いてスギ花粉ペプチド特異的IL-4細胞のクローンサイズの年間変動を検討したところ、スギ花粉飛散が始まる直前の1月にクローンサイズとなり、スギ花粉飛散終了後に増加が見られ、血中のスギ花粉特異的IgE値と相関を示した。

(3) スギ花粉症を発症して千葉大学及び関連病院を受診した中等症以上の患者に2週間抗ヒスタミン薬、点鼻ステロイド薬の併用療法を行った。65名で詳細な解析が可能であった。アレルギー日記からの鼻症状スコア、JRQLQ、RQLQ調査でいずれも高い改

善、有効性が認められた。病型を分けて検討したところ、くしゃみ／鼻漏型ではJRQOQの全項目、鼻閉型では総括的狀態を除いてすべての項目で高い改善が示された。

4) 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

千葉県下の鼻アレルギー患者の縦断的調査からスギ花粉に対するIgE値は1995年から2004年の10年間の間隔でも40歳代以降の中老年において低下は明らかにはみられず、一方感作者のうち発症する割合は10年間でむしろ増加していた。現在20歳代では70%を超える高いスギ花粉感作率が見られるが、これらの感作陽性者の発症する可能性は、50歳代、60歳代になっても高まることが危惧される。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。

スギ花粉症で治療を求めて来院する患者はほぼ全て中等症以上であるが、鼻アレルギー診療ガイドラインではこのうちくしゃみ／鼻漏型には抗ヒスタミン薬と点鼻ステロイド薬の併用を推奨しているが。しかし、併用療法の有効性についての検討はこれまでほとんどなされていない。今回の検討では、くしゃみ／鼻漏型のみならず鼻閉型についてもQOL調査で高い有効性が示され、あらゆる病型に対しても有効性が高いことが示され、スギ花粉症治療の幅広い基本的薬物投与方法となり得ると考えられた。

スギ花粉症の末梢血のT細胞subpopulationの検討から抗原非特異的なTh1/Th2細胞に

は異常はみられないこと、スギ花粉抗原特異的T細胞クローンサイズはTh2細胞が高い割合を示し、かつ花粉飛散後に上昇し、飛散後に著しく低下するといった変動が確認された。Th2細胞のメモリー機構の解明につながるだけでなく、今後各種治療法の有効性の検討、鼻粘膜を利用した免疫治療の開発と共に新しい治療法の開発への展開につなげていきたい。

E. 結論

花粉症検診の縦断的調査から、今後中年においてもスギ花粉症患者の発症の増加が危惧される。スギ花粉症に対して抗ヒスタミン薬と点鼻ステロイド薬の併用は、病型を問わず一定の効果を示す。スギ花粉抗原特異的T細胞クローンサイズの検討は、スギ花粉症の病態解明、根本治療の開発に有効な情報を提供すると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Jin H R, Okamoto Y, Matsuzaki Z, Endo S, Ito E, Cetirizine decreases interleukin-4, interleukin-5, and interferon- γ gene expression in nasal associated lymphoid tissue of sensitized mice. *American Journal of Rhinology* 16:43-48,2002

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

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

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.

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

Horiguchi S, Okamoto Y, Chazono Z, Sakurai D,
Kobayashi K, Expression of membrane-bound
CD23 in nasal mucosal B cells from patients
with perennial allergic rhinitis. Ann Allergy
Asthma Immunol 95:286-291, 2005

2. 学会発表

岡本美孝 鼻アレルギー研究の最近の進歩
第54回日本アレルギー学会総会, 教育講演

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

アレルギー構成糖鎖やメディエーターを利用した新規治療法の開発

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・頭頸部外科助教授

研究要旨：遊離型アレルギー構成糖鎖やプロスタグランジン (PG) あるいはヒスタミンのスギ花粉主要アレルギーCry j 1に特異的な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。スギ花粉症患者より末梢血単核細胞(PBMC)を採取し、Cry j 1に特異的なT細胞株 (TCL) を樹立した。PBMCあるいはTCLをCry j 1にて刺激する際に、種々の濃度の遊離型Cry j 1構成糖鎖 (M3FX)、PGD2、PGE2、ヒスタミンおよび各メディエーターに選択的なアゴニストを添加し、増殖応答およびサイトカイン産生の変化を解析した。M3FXを添加した場合にCry j 1特異的増殖応答およびIL-4産生の有意な抑制が認められた。またPGD2の添加はCry j 1特異的なIL-4産生を亢進した。この作用は抗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産生を抑制し、その調節にはEP2およびEP4が選択的に関与していた。Cry j 1特異的T細胞応答に対して、ヒスタミンの添加は有意な作用を示さなかったが、HR4アゴニストはCry j 1特異的T細胞応答を濃度依存的に抑制した。以上より遊離型Cry j 1構成糖鎖M3FX、PGE2、HR4アゴニストにはCry j 1特異的T細胞応答を抑制する作用を有することが明らかとなり、これらの物質を基盤とした創薬展開が、花粉症に対する新規治療法のひとつとして有望である可能性が示唆された。

A. 研究目的

花粉症はCry j 1などの花粉アレルギーに特異的なT細胞、特にTh2細胞によってその方向性が規定されている。近年、肥満細胞などの免疫担当細胞から放出されるヒスタミンやプロスタグランジン (PG) などのケミカルメディエーターが即時型の反応のみならず、T細胞の活性化や分化に影響を与えるという報告がみられるようになった。また我々は以前に、Cry j 1を構成する糖鎖が特異的T細胞応答に促進的に関与することを報告した。この結果は、Cry j 1を構成する糖鎖を用いることにより、スギ花粉症に対する新規治療法を開発できる可能性を示している。そこで今回は、Cry j 1細胞応答の制御にこれらの遊離型Cry j 1構成糖鎖、PGD2、PGE2、ヒスタミンが関与するのか検討し、花粉症治療への可能性について考察した。

B. 方法

1. Cry j 1特異的T細胞株の作製

スギ花粉症患者より末梢血単核細胞 (PBMC) を採取しCry j 1に特異的なT細胞株 (TCL) を樹立した。

2. 遊離型Cry j 1構成糖鎖、PGD2、PGE2、ヒスタミンによる抗原特異的T細胞応答の制御

これらのT細胞を抗原+抗原提示細胞と反応させる際に、種々の濃度の遊離型Cry j 1構成糖鎖、PGD2、PGE2、ヒスタミン添加し、増殖応答およびサイトカイン産生を観察した。さらにPGD2、PGE2、ヒスタミンに関しては各受容体に選択的なアゴニストを添加し、受容体特異性を検討した。

C. 結果

1. 糖鎖のCry j 1特異的T細胞応答への関与に関する検討

Cry j 1特異的T細胞を遊離型Cry j 1構成糖

鎖であるM3FXにて刺激しても増殖応答およびサイトカイン産生は誘導されなかった。一方、Cry j 1特異的T細胞応答の際にM3FXを添加した場合に増殖応答およびIL-4産生の有意な抑制が認められた。

2. PGD2のCry j 1特異的T細胞応答への作用

Cry j 1特異的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。

3. PGE2のCry j 1特異的T細胞応答への作用

PGE2の添加はCry j 1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。

4. ヒスタミンおよびHRアゴニストのCry j 1特異的T細胞応答への作用

Cry j 1特異的T細胞応答に対して、ヒスタミンの添加は有意な影響を与えなかった。しかしながら、Dimaprit、Clozapine、ClobenpropitといったHR4アゴニスト作用を有する化合物の添加は濃度依存性にCry j 1特異的なT細胞の増殖応答およびIL-4産生を抑制した。

D. 考察

遊離型Cry j 1構成糖鎖M3FXを用いた検討からは、Cry j 1構成糖鎖はそれ自身がT細胞エピトープとなる可能性も否定的である。しかしながら遊離型糖鎖はCry j 1特異的T細胞応答を抑制した。その機序については不明であるが、T細胞あるいは抗原提示細胞に糖鎖特異的なレセプターが存在し、遊離型糖鎖はCry j 1とレセプターとの結合阻害を行うことにより特異的T細胞を抑制する可能性が考えられる。

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、特にアレルギーに特異的な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CRTH2を介してい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Cry j 1に特異的な応答（増殖応答、サイトカイン産生）を濃度依存性に抑制し、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。

Cry j 1特異的ヒトT細胞応答においてHR4を介するシグナルが増殖応答およびサイトカイン産生を抑制する可能性が明らかとなった。最近の報告では、ヒスタミンはHR4を介して好酸球遊走を誘導するという報告や、ヒトCD8陽性T細胞からのIL-16産生にHR4がHR2と共に関与するという報告がみられる。今回の結果はHR4の抗原特異的ヒトCD4陽性T細胞応答への関わりをみた嚆矢となるものと思われる。

E. 結論

遊離型Cry j 1構成糖鎖M3FX、PGE2、HR4アゴニストはCry j 1特異的T細胞応答に対して抑制的に働くことが示唆された。各物質の特性を十分に理解し利用することで、アレルギーに特異的なT細胞の機能を制御し、花粉症の治療を行うことが期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表（英文）

Yamashita Y, Okano M, et al. Carbohydrate expressed on *Aspergillus fumigatus* induce in vivo allergic Th2-type response. Clinical and

Experimental Allergy 32: 776-782, 2002.

Hattori H, Okano M, et al. Intranasal application of purified protein derivative (PPD) suppresses the initiation but not the exacerbation of allergic rhinitis in mice. *Clinical and Experimental Allergy* 32: 951-958, 2002.

Watanabe T, Okano M, et al. Roles of Fc_γRIIB in nasal eosinophilia and IgE production in murine allergic rhinitis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 169: 105-112, 2004.

Okano M, et al. Roles of major oligosaccharides on Cry j 1 in human IgE and T cell responses. *Clinical and Experimental Allergy* 34: 770-778, 2004.

Takishita T, Okano M, et al. Characterization of allergen-specific monocyte-derived dendritic cells generated from monocytes by a single step procedure: Effect on naive and memory T cells. *Allergy* 60: 211-217, 2005.

Nishioka K, Okano M, et al. Immunosuppressive effect by restraint stress on the initiation of allergic rhinitis in mice. *International Archives of Allergy and Immunology* 136: 142-147, 2005.

Okano M, et al. Nasal exposure to Staphylococcal enterotoxin enhances the development of allergic rhinitis in mice. *Clinical and Experimental Allergy* 35: 506-514, 2005.

Kimura Y, Kamamoto M, Maeda M, Okano M, et al. Occurrence of Lewis a epitope in N-glycans of a glycoallergen, Jun a 1, from the mountain cedar (*Juniperus ashei*) pollen.

Bioscience Biotechnology Biochemistry 69: 137-144, 2005.

Hattori H, Okano M, et al. Signals through CD40 play a critical role in the pathophysiology of *Schistosoma mansoni* egg antigen-induced allergic rhinitis in mice. *American Journal of Rhinology* (in press).

2. 学会発表

岡野光博ら：遊離型糖鎖によるCry j 1特異的T細胞応答の制御. 第52回日本アレルギー学会総会、2002.

菅田裕士、岡野光博ら：遊離型糖鎖を用いたCry j 1構成糖鎖のIgEエпитープ活性に関する検討. 第52回日本アレルギー学会総会、2002.

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)、2004.

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.

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.

岡野光博：Role of costimulatory molecules in the development of allergic rhinitis. 第20回欧州鼻科学会（パネルディスカッション；Mucosal Immunity）、2004.

知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特願2002-314129：「花粉症治療剤」発明者：岡野光博、木村吉伸、紀 光助 出願年月日：平成14年10月29日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

鼻線維芽細胞によるケモカイン産生シグナルの検討：新しい治療法の開発をめざして

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
研究協力者 山田武千代 福井大医学部耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講師

研究要旨：アレルギー性鼻炎とりわけ花粉症の増加は、大きな社会問題となっている。その原因として感染の減少が注目されている。感染により賦活化される自然免疫は、TLR (Toll-like receptor) を介して、アレルギー性鼻炎発症の制御をも担っている可能性がある。鼻粘膜は多くの病原体の第一曝露部位であり、その反応は、生体を維持していくうえで極めて重要である。鼻粘膜において、構成細胞である線維芽細胞を中心に、増殖・分化などさまざまな機能がサイトカインやケモカインを利用して営まれている。本研究では、鼻線維芽細胞から産生される好酸球遊走因子であるケモカイン (Eotaxin・RANTES) の産生において、どのような刺激でどのようなシグナルを経て、どのように制御されるのかを検討した。

その結果、RANTES産生においてPI3 kinase経路が重要であり、増殖はRal-CDC/Racの系が重要であることが判明した。またRNAウイルス感染を模倣したpoly(I:C)：dsRNA刺激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。その産生経路はRANTESがPI3 kinaseとJNK、IL-8がp38MAPKであった。一方、IL-4刺激によって産生される代表的な好酸球遊走因子Eotaxinは、ERKの経路を使用することが判明した。さらにpoly(I:C)：(dsRNA) の刺激を加えるとJNKの経路も働き、相乗効果を認めることが判明した。

次にサイトカインレセプターからのシグナル伝達において抑制系のシグナル伝達分子を検討した。その結果、IL-4刺激で産生されるEotaxinは、SOCS5の発現量と逆相関を示していた。SOCS1、SOCS3、STAT6、IL-4Rの発現量とEotaxin量は全く相関を認めなかった。以上のことから、SOCS5の発現量を亢進させることも、好酸球炎症を抑える一つの治療戦略になることが判明した。

A. 研究目的

アレルギー性鼻炎患者鼻粘膜において、粘膜上皮細胞や線維芽細胞を中心に、多種多様なサイトカイン・ケモカインが産生され、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よって、上皮細胞や線維芽細胞から産生されるサイトカイン・ケモカインが、好酸球や好中球などの炎症細胞の遊走を促進させる。そこで我々はまず、この炎症細胞遊走因子産生のシグナルを解明することが、新しい治療薬や遺伝子治療の開発を導けると考えた。

次に、Double strand (ds) RNAである

poly(I:C)は、RNAウイルス感染を模倣する際に広く用いられるが、自然免疫におけるToll-like receptor3 (TLR3)のリガンドであることも判明している。鼻腔は気道の入り口であり、最もウイルスに曝露される器官と考えられ、poly(I:C)刺激によって、鼻腔粘膜もいろいろな反応を示すはずである。しかしそれらの反応は、ほとんど検討されていない。そこでdsRNAによる鼻粘膜線維芽細胞からのサイトカイン・ケモカイン産生の特徴とシグナルを検討することとした。

シグナルはまずRasに注目した。ついでその下流にあるPI3 kinase、JNK、p38MAPK、ERK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、文書で患者の同意を得たのち行った。

Rasは低分子量GTP結合蛋白であり、GDPが結合した不活性型とGTPが結合した活性型をサイクルしている。Rasの関与を検討するためにRasの変異常時活性型発現ベクターを用いた。野生型ではエフェクタードメインが12番G（グリシン）、35番T（スレオニン）、37番E（グルタミン酸）、40番T（チロシン）であるが、それを12番V（バリン）、35番S（セリン）、37番G（グリシン）、40番C（システイン）に置換したものをRas12V35S、Ras12V37G、Ras12V40Cとして使用した。一般的変異活性型としてRas12Vを用いた。Ras12V35Sを癌細胞に遺伝子導入するとRaf-ERKの系を活性化し、Ras12V37GではRal-CDC/Racの系を、Ras12V40CではPI3 kinaseを主に活性化することが判明している。Ras12Vは、この3つの系をすべて活性化する。これら4種の発現ベクターを線維芽細胞に遺伝子導入した。RANTES産生、Eotaxin産生は遺伝子導入後24時間後の培養上清を回収し、ELISAキットを使用して測定した。

次に分離培養した線維芽細胞をpoly(I:C)、およびIFN γ 、IL-4にて刺激し、産生されるサイトカイン、ケモカインを検討した。それぞれのサイトカイン、ケモカインを検討した。それぞれのEotaxin産生をELISAキットには、ELISAキットにて測定した。細胞内シグナル伝達は、各種特異的阻害薬を用いてどのような影響を及ぼすか検討した。さらに線維芽細胞を刺激した際のSOCS1、SOCS3、SOCS5、STAT6、IL-4Rの発現をreal time PCRにて定量した。

C. 結果

Ras変異常時活性型発現ベクターを導入すると、IL-1 β やTNF- α 刺激などの刺激なしに2000から8000 pg/mlの大量のRANTESが産生された。もっともRANTES産生が高かったのは、Ras12Vであった。3つの中では、Ras12V40CのRANTES産生が最も高く、Ras12V37Gが最も低かった。同時に線維芽細胞を1週間培養後、増殖をMTT assayにて検討すると、逆にRas12V37Gで最も増殖能が高かった。以上のことはRANTES産生と増殖経路が異なることが判明した。一方、Eotaxin産生は、Ras変異常時活性型発現ベクターを導入しても認められなかった。

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。しかしEotaxinの産生については、poly(I:C)単独刺激では、産生誘導はされず、IL-4の刺激を加えてもpoly(I:C)の相乗効果は認められなかった。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。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。

鼻由来線維芽細胞にIL-4刺激を行なうとEotaxinは産生された。IL-4存在下で、各種濃度のpoly(I:C)を添加していくと1mg/mlをピークとする相乗効果を認めた。IL-4単独刺激によるEotaxin産生は、U0126(ERK阻害薬)にて有意に抑制された。しかしSP600125

（JNK阻害薬）とSB203580（p38阻害薬）ではEotaxin産生に影響を及ぼさなかった。一方、IL-4とpoly(I:C)の同時刺激では、U0126(ERK阻害薬)にて有意に抑制されるとともに、SP600125（JNK阻害薬）にてても有意にEotaxin産生が抑制された。以上のことから、鼻由来線維芽細胞におけるIL-4刺激によるEotaxin産生はERKの経路を使用することが判明した。さらにpoly(I:C)の刺激を加えるとJNKの経路も働き、相乗効果を認めることが判明した。

次に樹立した鼻由来線維芽細胞16株をIL-4にて刺激し、産生されたEotaxin量を比べると、大小様々であった。そこでもう一度同じ実験を行うとともに、刺激をした細胞からRNAを抽出し、real time PCRにてSOCS1、SOCS3、SOCS5、STAT6、IL-4Rの発現を調べるとEotaxin量とSOCS5が逆相関を示していた。SOCS1、SOCS3、STAT6、IL-4Rの発現量とEotaxin量は全く相関を認めなかった。

D. 考察

RANTES産生においてRas12V40CでのPI3 kinase経路が増殖と無関係に重要であることが判明した。poly(I:C)の刺激により、RANTESとIL-8産生の著明な産生亢進を認めたが、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IL-8産生に関与していることがわかった。

Eotaxinは最も効果の高い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。その機序にRasは関係しない。poly(I:C)とIL-4刺激で著明なEotaxin産生亢進を認めた。このことは、アレルギー性鼻炎患者鼻腔粘膜の好酸球性炎症の増悪にウイルス感染が関与している可能性が示された。またその際のpoly(I:C)によるシグナルはJNKが重要であり、IL-4刺激ではERKが関与して

いた。細胞内のSOCS5が多いとEotaxin産生が少なくなり、今後SOCS5を増加させる因子を検索することが大切であると思われた。

E. 結論

鼻粘膜でのRANTES産生においてJNKとPI3キナーゼが、IL-8産生にp38MAPKが重要なことが判明した。このことは、細菌性の副鼻腔炎においては、p38MAPKを標的とした治療が効果を挙げる可能性を示唆している。一方、EotaxinにはERK経路が重要であり、またSOCS5を亢進させるものがアレルギー性鼻炎治療の新しい分子の一つとなる可能性がでてきた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hyo S, Fujieda S, Kawada R, Kitazawa S, Takenaka H: Comparison of efficacy by short-term administration of antihistamines cetirizine, fexofenadine, and loratadine versus placebo under natural exposure to Japanese cedar pollen. *An Allergy Asthm Immunol*, in press.

藤枝重治：減感作療法の未来展望。今月の治療12;1321-1325, 2004.11

藤枝重治、山田武千代、高橋昇：アレルギー性鼻炎の将来展望 97;757-765, 2004.9

藤枝重治：通年性アレルギー性鼻炎。アレルギー・免疫, 11;886-893, 2004.6

藤枝重治：浸潤細胞とサイトカイン 76;167-176, 2004.5

高橋昇、藤枝重治、山田武千代、他：Ras変異型遺伝子導入による鼻線維芽細胞におけるRANTES産生の検討 耳鼻免疫アレルギー 22;13-16, 2004.3

藤枝重治、高橋昇、山本英之、小嶋章弘、山田武千代：内分泌攪乱物質とIgE産生：アレルギー性鼻炎への関与 耳鼻免疫アレルギー 22;6-12, 2004.3

藤枝重治、高橋昇、山本英之、小嶋章弘、山田武千代：IgE産生と環境因子。喘息 17;33-38, 2004.1

藤枝重治、山田武千代、高橋昇、木村有一、山本英之、小嶋章弘、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、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.

Yamada T, Zhang K, Yamada A, Zhu D, Saxon A: B Lymphocyte Stimulator Activates p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in Human Ig Class Switch Recombination. Am J Respir Cell Mol Biol. 32:388-394, 2005.5.

Yamada T, Zhu D, Zhang K, Saxon A: Inhibition of interleukin-4-induced class switch recombination by a human immunoglobulin Fc gamma-Fc epsilon chimeric protein. J Biol Chem. 278:32818-32824, 2003.8.

Yamada T, Zhu D, Saxon A, Zhang K: CD45 controls interleukin-4-mediated IgE class switch

recombination in human B cells through its function as a Janus kinase phosphatase. J Biol Chem. 277:28830-28835, 2002.8.

2. 学会発表

藤枝重治、山田武千代、高橋昇：第105回日本耳鼻咽喉科学会総会,アレルギー性鼻炎に対する新しい治療開発. 2004.5. 広島

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

スギ花粉症に対する予防医学に関する研究

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助教授

研究要旨：スギ花粉症は増加の一途をたどり、社会的、経済的損失も年々大きくなってきている。今後これらの治療は対症療法から予防医学へと進化していくことが望まれる。スギ花粉症はIgEを介した典型的なI型アレルギー性疾患であり、病態成立は遺伝に立脚している。IgE値や炎症細胞の機能を規定している遺伝子や遺伝子多型を研究することは新しい治療法の開発や予防医学の確立に貢献する。スギ花粉症に対する予防医学を確立する目的で遺伝子多型とスギ花粉症発症との関係について調査研究をおこなった。好酸球関連遺伝子多型群のうちEotaxin G (123 G/A)はスギ花粉症発症年齢に影響を与える。IL-4R α 鎖遺伝子多型（Ile50Val）Ile homo型は他の型と比較して発症年齢が早く、2次発症し康やすいことが明らかとなった。逆にALA23-THR23型は発症年齢が遅い。また、好酸球関連遺伝子多型群のうちEotaxin G (123 G/A)、IL5 (703C/T)は感作成立後の症状発現時期、鼻粘膜過敏性に影響を与えている可能性がある。IL-4R α 鎖遺伝子多型に加えて好酸球関連遺伝子多型群を同時に解析することはスギ花粉症の予防医学に有用と思われた。また、感作が成立していて発症していない症例の追跡調査、自然寛解の有無に関する追跡調査が必要と考える。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。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も示唆された。

A. 研究目的

アレルギー疾患特にスギ花粉症は増加の一途をたどり、社会的、経済的損失も年々大きくなってきている。今後これらの治療は対症療法から予防医学へと進化していくことが望まれる。スギ花粉症はIgEを介した典型的なI型アレルギー性疾患であり、病態成立は遺伝に立脚している。IgE値や炎症細胞の機能を規定している遺伝子や遺伝子多型を研究することは新しい治療法の開発や予防医学の確立に貢献する。スギ花粉症に対する予防医学を確立する目的で遺伝子多型とスギ花粉症発症との関係について調査研究をおこなった。

B. 方法

1. IgE関連IL-4R α Ile50Val、IL-4R α Arg551Glnの多型解析：スギ花粉患者を対象として末梢血を採取。末梢血単核球より

DNA Zol でDNAを抽出したのち、PCR法により各遺伝子を増幅しIL-4R α Ile50Val、IL-4R α Arg551Glnの多型を検討した。これらと血清IgE値、発症年齢との相関を検討した。二次発症と遺伝子多型との関係を調べるため、4年前にCAPRASTでスギ花粉に対する抗体値がスコア2以上で未発症の症例を対象として、その後の発症の有無についてアンケート調査し、遺伝子多型との関係を調べた。

2. 好酸球関連遺伝子多型Eotaxin G (123 G/A)、ECP promoter 393C/T、IL5 (703C/T) genotypeの解析。(1) 健常人との発現率の差、(2) 末梢血好酸球数、血漿中のeotaxin濃度、(3) 血清中総IgE、スギ花粉特異的IgE値、(4) 発症年齢について検討を加えた。

(倫理面への配慮) 本研究では全般にわたり、文部科学省、厚生労働省、経済産業省の三

省による平成13年4月1日施行の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（以下、「倫理指針」と略す）を遵守した。また、本研究計画千葉大学倫理委員会の承認をすでに得ている。対象者の人権擁護にも十分配慮した。また、本研究で得られた個人情報外部にもれることのないよう厳重に管理した。試料等は、個人識別情報管理者を設け、連結可能匿名化することにより、研究者に患者の特定ができないよう配慮した。

3. Th2細胞を誘導する反応軸として重要な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。（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PGD2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、PGD2、CRTH2transfectantの細胞内カルシウム反応との相関を調べた。

C. 結果

1. IgE関連IL-4R α Ile50Val、IL-4R α Arg551Glnの多型解析：スギ花粉症患者を対象として、細胞外領域に存在する50番目のアミノ酸がバリンからイソロイシンに置換される遺伝子多型（IL-4R α Ile50Val）および、細胞内領域に存在する551番目のアミ

ノ酸がグルタミンからアルギニンに置換される遺伝子多型（IL-4R α Arg551Gln）を解析したがいずれも健常人と比較して有意な差は認められなかった。しかし、50番目のアミノ酸がイソロイシンホモ型を示すスギ花粉症患者は他の発現型を示す患者と比較してIgE値が高値を示しており、また、発症年齢が低く20歳までに74%が発症していた。次に遺伝子多型が2次発症に与える影響について検討するために4年前にCAPRASTでスギ花粉に対する抗体値がスコア2以上で未発症の症例を対象として、その後の発症の有無についてアンケート調査し、遺伝子多型との関係を調べた。4年前に未発症であった145人中38人が発症していた。これらの症例の遺伝子多型別の発症率は、イソロイシンホモ型47.8%、ヘテロ型24.8%、バリンホモ型23.2%とイソロイシンホモ型で高率に発症が認められた

2. 好酸球関連遺伝子多型Eotaxin G (123 G/A)、ECP promoter 393C/T、IL5 (703C/T) genotypeの解析：（1）今回検討したgenotypeはいずれも健常人とスギ花粉症患者間で有意な差はみられなかった。（2）（3）Eotaxin G (123 G/A)で、THR23 allele(123 G/A)を有する症例では有さない症例と比較して血漿中eotaxin濃度は有意に低値を示していた。また、血清中総IgE値、スギ花粉特異的IgE値も有意に低値を示していた。一方、好酸球数には差が見られなかった。ECP promoter 393C/Tでは血清中ECPレベルでも差が見られなかった。検討した全てのパラメーターで有意な差がなかった。IL5 (-703C/T) genotypeでは、CCホモの症例では他の症例と比較して末梢血好酸球数は有意に高値を示していた。（4）好酸球関連遺伝子多型群のうちEotaxin G (123 G/A)でALA23-THR23型は有意に発症年齢が遅かった。

3. CRTH2の解析

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。Transmigration assayにおけるPGD2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CRTH2transfectant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。

D. 考察および結論

好酸球関連遺伝子多型群のうちEotaxin G (123 G/A)はスギ花粉症発症年齢に影響を与える。IL-4R α 鎖遺伝子多型 (Ile50Val) Ile homo型は他の型と比較して発症年齢が早く、2次発症し康やすいことが明らかとなった。逆にALA23-THR23型は発症年齢が遅い。また、好酸球関連遺伝子多型群のうちEotaxin G (123 G/A)、IL5 (703C/T)は感作成立後の症状発現時期、鼻粘膜過敏性に影響を与えている可能性がある。IL-4R α 鎖遺伝子多型に加えて好酸球関連遺伝子多型群を同時に解析することはスギ花粉症の予防医学に有用と思われた。また、感作が成立していて発

症していない症例の追跡調査、自然寛解の有無に関する追跡調査が必要と考える。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。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も示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

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.

Terada N, Kobayashi T, Suzuki T, Yamazaki K, Izuhara K, Konno A. Aiming toward effective preventive medicine against Japanese cedar pollinosis: Epidemiology, patient investigation, and integrated research including genotype analyses. *Clin Exp Allergy*. In press.

2. 学会発表

Terada N. New axis of the lymphocytes /eosinophils in allergic rhinitis - from basic research to therapy to clinical application. 5th Asia Pacific Congress of Allergology and Clinical Immunology and 7th West Pacific Allergy Symposium, Seoul, Korea, 2002/10.

寺田修久、牛来茂樹、今野昭義、出原賢治 IL-4受容体遺伝子多型がスギ花粉症発症に与える影響 第102回日本耳鼻咽喉科学会総会 東京 2002/5.

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

寺田修久、大川 徹、岡本美孝、今野昭義
アレルギー疾患は増えているか。(分担) ア
レルギー性鼻炎 第16回日本アレルギー学
会春期臨床大会, 前橋市, 2004/5.

寺田修久 好酸球関連遺伝子多型群の解析
ARフォーラム、東京, 2004/8.