

Influence of viral infection on the development of nasal hypersensitivity

Y. Okamoto*, Z. Matsuzaki†, T. Matsuoka†, S. Endo†, H. Yamamoto*, H. Chazono*, S. Horiguchi* and T. Hanazawa*

*Department of Otolaryngology, Graduate School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan and †Department of Otolaryngology, Yamanashi Medical University, Yamanashi, Japan

Summary

Background The underlying relationship between viral infections and allergic diseases of the upper respiratory tract has not been well clarified.

Methods In order to clarify the relationship between viral infection and nasal hypersensitivity, mice were sensitized with ovalbumin (OVA) and then infected intranasally with respiratory syncytial virus (RSV), after which their nasal sensitivity to histamine or antigen was examined.

Results Non-sensitized mice showed transient mild nasal hypersensitivity following nasal administration of histamine after intranasal RSV inoculation. In mice sensitized with OVA, RSV infection significantly exaggerated their nasal hypersensitivity to histamine and OVA. Treatment of these mice with a neurokinin (NK)-1/NK-2 receptor antagonist, but not with anti-IL-5 antibodies, reduced their hypersensitivity. The infiltration of nasal mucosa with eosinophils was temporarily associated with accelerated rate of RSV elimination in these animals.

Conclusion RSV infection induced transient nasal hypersensitivity. Several mechanisms, including impairment of nasal epithelial cells are thought to mediate this effect. In allergen-sensitized mice, RSV inoculation strongly enhanced nasal hypersensitivity.

Keywords histamine, nasal hypersensitivity, RSV

Submitted 15 April 2004; revised 24 September 2004; accepted 23 November 2004

Introduction

Recent epidemiological evidence has suggested that acute respiratory viral infections exacerbate the symptoms of pre-existing reactive airway diseases and is the most important trigger of acute asthmatic attacks [1–4]. Viruses, rather than bacteria, cause most acute respiratory tract infections, and asthma attacks in children are often preceded by viral infection [5–7].

The nasal cavity is often the first target of invading viruses, because it is the point of entry into the respiratory tract. The common cold is the most widespread viral infectious condition and is usually caused by viruses such as rhinoviruses, parainfluenza viruses, influenza viruses, adenoviruses and respiratory syncytial virus (RSV) [8, 9]. However, the relationship between viral infections and allergic diseases in the upper respiratory tract has not been well defined. The results from studies that have examined the influence of atopy on the development of the symptom after viral infections are controversial [10–13]. Bardin et al. [11] observed more severe cold symptoms in atopic subjects than in non-atopic subjects after experimental rhinovirus infection. However, in another study, augmented nasal allergic inflammation induced by

antigen provocation before viral inoculation did not result in a worsening of cold symptoms [12]. The effects of the common cold on nasal hypersensitivity or allergic rhinitis have not been clearly established.

Nasal responses to viral infection are thought to differ depending on the viral species. Although rhinoviruses causes little damage to epithelial cells in the respiratory tract, RSV induces marked cytopathic effects [13]. RSV is an RNA virus infection which usually results in common cold symptoms, although progression to lower respiratory tract symptoms, the most common being bronchiolitis, frequently occurs in infants. RSV causes about 60% of the bronchitis cases in children [14, 15]. In prospective studies, as many as 75–90% of infants with a clinical diagnosis of bronchiolitis subsequently developed recurrent episodes of wheezing suggestive of childhood asthma and experienced airway histamine or methacholine hypersensitivity which persisted for several years [16–22].

In the present study, we have shown that RSV infection contributes to the exacerbation of nasal hypersensitivity in an allergic rhinitis mouse model.

Materials and Methods

Animals

Eight-week-old male C57BL/6 mice (Nippon Clea, Shizuoka, Japan) that were raised on ovalbumin (OVA)-free chow were

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

used in this study. Hartley strain guinea-pigs (Nippon Clea) were also used to measure passive cutaneous anaphylaxis (PCA). The use of these laboratory animals was approved by the local Animal Ethics Committee (Yamanashi Medical University) and the experiments were conducted in conformity with the guidelines of the committee.

Experimental infection with respiratory syncytial virus

The long strain of RSV (prototype RSV group A strain) was grown in HEp-2 cells in minimal essential medium (MEM) supplemented with 2% fetal calf serum (FCS), 2 mM L-glutamine and antibiotics. RSV was partially purified by polyethylene glycol precipitation, followed by centrifugation in a 35–65% discontinuous sucrose gradient, as described elsewhere [23]. RSV (1×10^6 plaque-forming units (PFU)) in a volume of 20 μ L was administered intranasally to mice. Uninfected HEp-2 cells were processed similarly and used as controls.

Virus assay

Lungs and nasal tissues were collected and homogenized in MEM containing 2% FCS and were stored at -70°C until they were assayed. RSV was assayed by the plaque method using HEp-2 cells in 24-well microplates. The overlay for the plaque assay consisted of MEM supplemented with 2% FCS, antibiotics and 1% methylcellulose. Plates were incubated for 7 days at 37°C . After the methylcellulose was removed, the plaques were fixed with 10% formaldehyde and stained with 0.1% crystal violet.

Evaluation of sensitivity to histamine in nasal mucosa

One microlitre of various concentrations of histamine, diluted in phosphate-buffered saline (PBS), was administered into each nostril of the experimental mice. The number of nasal rubbing attacks that occurred during the ensuing 10 min was then counted.

Experimental protocol for sensitization with ovalbumin

Mice were immunized with 10 μ g OVA (grade V, Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) intraperitoneally with alum once a week for 4 weeks. Heat-killed bordetella pertussis (1×10^8 bacterial units) was used as an adjuvant in the first immunization. Five days after the last immunization, the mice were either inoculated with RSV or sham-infected with sonicated non-RSV-infected HEp-2 cells. Two micrograms OVA in 2 μ L PBS was administered intranasally for 5 consecutive days after the inoculation. Sensitized mice were divided into the following experimental groups and treated as follows. Group 1 consisted of 30 mice treated with a neutralizing IL-5 antibody or a neurokinin (NK)-1/NK-2 antagonist. A rat neutralizing monoclonal antibody (mAb) directed against mouse IL-5 (PharMingen, San Diego, CA, USA) and a control isotype mouse IgG1 mAb (PharMingen) were used. Antibodies were injected intraperitoneally twice a week at a dose of 0.1 mg for 1 week before RSV inoculation, and were administered intranasally for 5 consecutive days after inoculation. Group 2 consisted of 10 OVA-sensitized mice who received 0.04 μ g of the NK-1/NK-2 antagonist [24]

FK224 (Fujisawa Co Ltd, Osaka, Japan) intranasally for 5 consecutive days after RSV inoculation. On the day following the last nasal administration of OVA, the nasal rubbing attacks were counted for 10 min. The sensitivity of the mice to histamine was examined 24 h later in a similar manner.

Treatment of ovalbumin-sensitized mice with a neutralizing anti-interferon- γ monoclonal antibody or with interferon- γ

OVA-sensitized mice received 0.1 mg of anti-IFN- γ neutralizing mAb (PharMingen) or control mAb intraperitoneally twice a week and then intranasally for 5 consecutive days before nasal provocation with OVA. Other OVA-sensitized mice were administered 1 μ g of IFN- γ (PharMingen) intranasally for 5 consecutive days before provocation with OVA.

Detection of ovalbumin-specific immunoglobulin E antibody

OVA-specific IgE antibodies were detected by PCA [25]. Briefly, 100 μ L of undiluted and twofold diluted serum samples were injected intradermally into the dorsal skin of shaved guinea-pigs. Three days later, the animals were challenged intravenously with 1 mg OVA together with 1% Evans blue. A blue lesion of a diameter greater than 5 mm, as determined 30 min after the challenge, was considered to be positive. PCA titres were expressed as the reciprocal of the highest dilution giving a positive reaction.

Histological examination

On the 4th day after RSV inoculation the mice were killed by CO_2 overdose. The heads of the mice were detached along the line between the upper and lower jaws, and they were then fixed in formalin and decalcified. The section of the nasal cavity anterior to the eyeball was examined and processed for paraffin sectioning. Tissue sections were stained with PAS and the number of infiltrating eosinophils in the whole nasal septum mucosa of each section was determined.

Fluorescence-activated cell sorting analysis

Nasal mucosal tissue from the above mice was cut into small pieces, which were then teased gently through a nylon mesh using frost glass slides. The disrupted mucosa was then suspended in RPMI-1640 containing 10% FCS, penicillin (100 units/mL) and streptomycin (100 μ g/mL). After washing twice with medium, $\text{CD}3^+$ T cells were purified in 0.2 mL of RPMI-1640 using magnetic beads (Dyna, Great Neck, NY, USA). Following purification, the medium was supplemented with 10% FCS. 10^6 nasal $\text{CD}3^+$ T cells collected from seven RSV-infected OVA-sensitized mice or from non-infected OVA-sensitized mice were stained with fluorescein-conjugated anti- $\text{CD}4$ antibody (PharMingen) and fixed overnight with 4% paraformaldehyde (Sigma Chemical Co). The fixed cells were permeabilized by incubation in PBS with 1% bovine serum albumin and 2% saponin (Sigma Chemical Co) for 10 min. A phycoerythrin-conjugated anti-IFN- γ antibody (PharMingen) or an anti-IL-5 antibody (PharMingen), diluted to 20 μ g/mL in PBS, was then added. After a 30 min incubation, the cells were washed with PBS and were

analyzed using a FACScan (Becton Dickinson, Fullerton, CA, USA).

Statistical analysis

Comparisons between groups were evaluated using Student's *t* test and Wilcoxon's test.

Results

Viral replication and nasal histamine sensitivity

After nasal inoculation with 10^6 PFU of RSV, mild replication of RSV in the respiratory tract was observed with peak levels occurring in the lung on day 4 and the levels then declined until day 7 as shown previously [26]. RSV was recovered from the nasal mucosa for 12 days after inoculation.

Non-specific stimulation of the nasal mucosa of mice also resulted in nasal rubbings. The number of nasal rubbing attacks observed in 20 normal mice following nasal installation of $2 \mu\text{L}$ PBS was 9.4 ± 2.9 (mean \pm SD). Thus, the lowest histamine concentration administered intranasally in a volume of $2 \mu\text{L}$ that was needed to induce more than 20 nasal rubbing attacks was defined as the threshold level of nasal histamine hypersensitivity. After RSV inoculation, the threshold decreased and reached its lowest on day 4. It returned to normal by day 14 (Fig. 1(a)).

Influence of respiratory syncytial virus infection on ovalbumin-sensitized mice

The threshold of nasal hypersensitivity to histamine decreased in OVA-sensitized mice and RSV infection in OVA-sensitized mice induced a dramatic enhancement of nasal sensitivity to

histamine (Fig. 1(b)). The threshold of nasal hypersensitivity to histamine observed in RSV-infected mice increased gradually after the last nasal administration of OVA and 14 days later, it was the same as that of non-infected mice (data not shown). Fluorescence-activated cell sorting analysis of nasal mucosal T lymphocytes in the RSV-infected OVA-sensitized mice not only revealed an increased expression of IFN- γ , but also of IL-5 (Table 1). Anti-IL-5 treatment of RSV-infected OVA-sensitized mice using neutralizing antibodies reduced the histamine sensitivity in some degree ($P < 0.05$) and the treatment with an NK-1/NK-2 antagonist resulted in a marked reduction ($P < 0.001$) of the sensitivity (Fig. 1(b)).

After OVA nasal provocation the frequency of nasal rubbing attacks dramatically increased in RSV-infected OVA-sensitized mice, compared with non-infected sensitized mice (Fig. 2). However, anti-IL-5 treatment of RSV-infected OVA-sensitized mice did not significantly improve nasal symptoms after OVA administration. On the other hand, an NK-1/NK-2 antagonist resulted in a significant improvement (Fig. 2).

The number of eosinophils in the nasal mucosa was markedly increased in RSV-infected OVA-sensitized mice compared with those in non-infected OVA-sensitized mice (Fig. 3). The PCA titre, on the other hand, was not significantly different between the two groups (mean \pm SD; 21.1 ± 21.0 in infected sensitized mice, 16.6 ± 11.4 in non-infected sensitized mice). Anti-IL-5 treatment of RSV-infected OVA-sensitized mice significantly reduced the number of infiltrated eosinophils, however, the treatment with an NK-1/NK-2 antagonist had no effect on eosinophil infiltration.

The nasal administration of IFN- γ to OVA-sensitized mice increased the number of nasal eosinophils, but had no effect on nasal symptoms (Fig. 4). Treatment with anti-IFN- γ neutralizing antibodies did not affect nasal symptoms or eosinophil infiltration (Fig. 4).

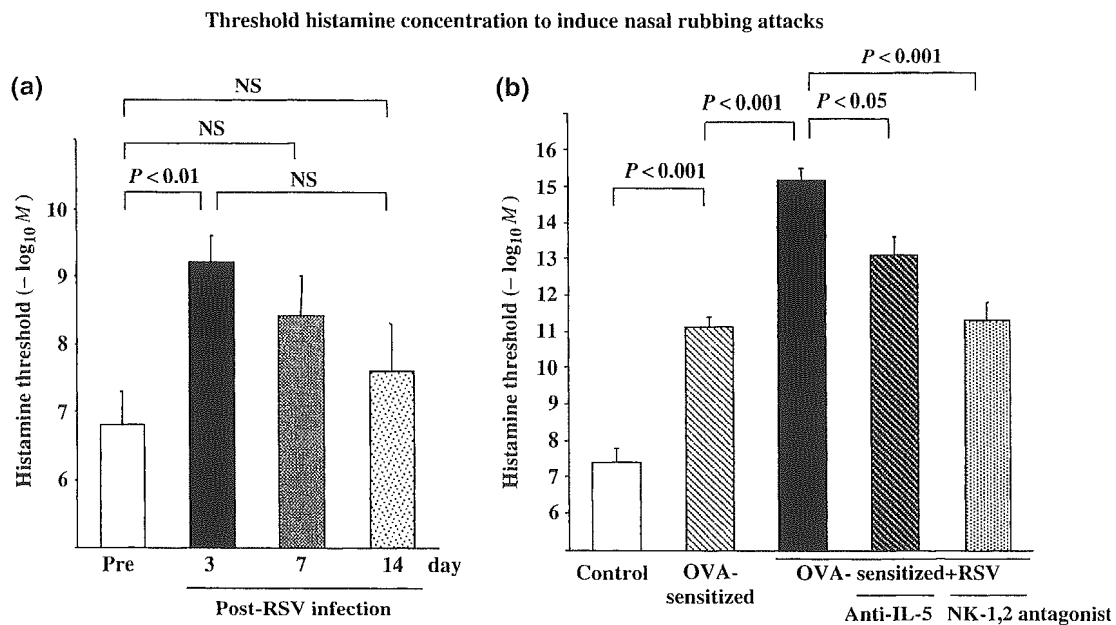


Fig. 1. Threshold histamine concentration needed to induce nasal rubbing attacks in respiratory syncytial virus (RSV)-infected non-sensitized mice (a) and in ovalbumin (OVA)-sensitized mice (b). After RSV inoculation, the threshold decreased transiently and reached its lowest on day 4. Although the threshold decreased in OVA-sensitized mice, RSV infection in OVA-sensitized mice induced a dramatic enhancement of the threshold. The treatment with neurokinin (NK)-1/NK-2 receptor antagonist but not with anti-IL-5 neutralizing antibodies improved the reduction. Non-OVA-sensitized mice were used as controls.

Table 1. IL-5 and IFN- γ expression of nasal mucosal T lymphocytes from OVA-sensitized mice*

	RSV-infected mice (%)	Sham-infected mice (%)
IL-5	11.9	6.2
IFN- γ	17.4	11.4

OVA, ovalbumin; RSV, respiratory syncytial virus.

*Mean of two groups and each group consisted of T lymphocytes collected from nasal mucosa of seven mice.

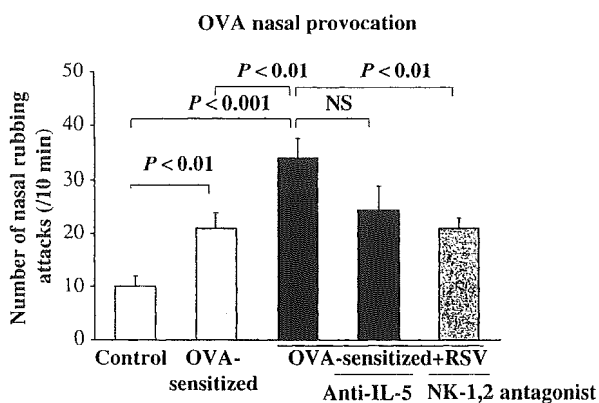


Fig. 2. The number of nasal rubbing attacks in ovalbumin (OVA)-sensitized mice following OVA provocation. Respiratory syncytial virus (RSV) infection in OVA-sensitized mice induced a dramatic enhancement of number of attacks. The anti-IL-5 treatment reduced the enhancement in some degree and the topical administration of the neurokinin (NK)-1/NK-2 receptor antagonist did more.

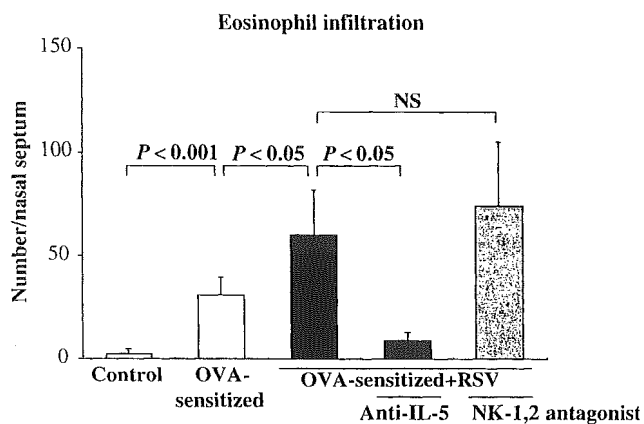


Fig. 3. The number of eosinophils in the nasal mucosa. Respiratory syncytial virus (RSV) infection markedly increased the eosinophil infiltration in ovalbumin (OVA)-sensitized mice. The treatment with anti-IL-5 antibodies reduced the number significantly but not with neurokinin (NK)-1/NK-2 receptor antagonists.

RSV replication on day 4 was significantly reduced in OVA-sensitized mice. However, the use of anti-IL-5 did not exhibit any influence on viral replication and no reduction in viral shedding was observed in anti-IL-5-treated OVA-sensitized mice (Fig. 5).

Discussion

The above studies were designed to examine the mechanism of nasal hypersensitivity observed during viral infections. A

murine RSV infection model was used in which the quantitative analysis of nasal rubbing attacks was evaluated as a measure of nasal hypersensitivity. Sneezes in mice are not clearly distinguishable as in humans and are difficult to quantify precisely. The evaluation of nasal obstruction is also difficult, because mice cannot survive by breathing orally. BALB/c mice are known to be sensitive to allergic reactions [27], particularly in the lower respiratory tract, although their nasal reactivity to histamine and other antigens is quite low (data not shown). While C57BL/6 mice are known to mount a Th1 dominant immune response [28], IgE production is inducible in these animals if the correct adjuvant, such as alum, is used, and nasal hypersensitivity can be observed after the topical administration of histamine or antigens. In light of the above and because RSV replication in the nose of BALB/c mice is tolerated well by these animals, we chose to use C57BL/6 mice in our study.

The observations summarized in this report suggest that experimentally induced infection with RSV results in significant enhancement of nasal sensitivity to OVA and histamine in previously sensitized animals. OVA-sensitized animals also exhibited increased expression of IL-5 and IFN- γ and pronounced accumulation of eosinophils in the nasal mucosa after RSV infection.

The mechanisms underlying the development of hypersensitivity states after viral infections such as RSV have not been clinically defined. It is possible that viral infection-associated mucosal damage; recruitment of mast cells, eosinophils and other cellular mediators of hypersensitivity; and activation of cholinergic, adrenergic or non-adrenergic non-cholinergic neurogenic mechanisms may play an important role in the development of mucosal hypersensitivity states [29–31].

In the present studies, pre-treatment with anti-IL-5 resulted in significant decrease in the accumulation of eosinophils. However, such treatment did not influence the degree of viral induced hypersensitivity. In fact, anti-IL-5 treatment was associated with decreased viral elimination in the nasal cavity, and as a result eosinophils may be associated with accelerated RSV elimination. It has been shown that eosinophil cationic protein and eosinophil-derived neurotoxin may act as rebonuclease-dependent antiviral agents [32]. In the present studies, it is interesting to note that use of IFN- γ was associated with increasing eosinophil counts but did not influence nasal hypersensitivity reactions. Thus, although eosinophils may play an important role in viral induced allergic inflammation [33, 34], eosinophils did not seem to contribute to nasal hypersensitivity to OVA in the current experimental setting. IFN- γ is a classical Th1 cytokine that has been shown to reduce allergic reactions when administered during sensitization [35]. However, treatment of OVA-sensitized animals with anti-IFN- γ neutralizing antibody did not decrease nasal sensitivity to OVA during RSV infection.

The observation of particular interest in the current studies is the significant reduction of nasal hypersensitivity detected after the use of NK-1/NK-2 antagonists, although such treatment did not influence eosinophil counts. Recently, it has been shown that infection with RSV frequently is associated with activation of NK receptor sites [36–38]. Tachykinin family of neuropeptides such as substance P have been shown to exhibit strong binding affinity for NK receptors especially NK-1. Such receptor-neuropeptide interactions are associated

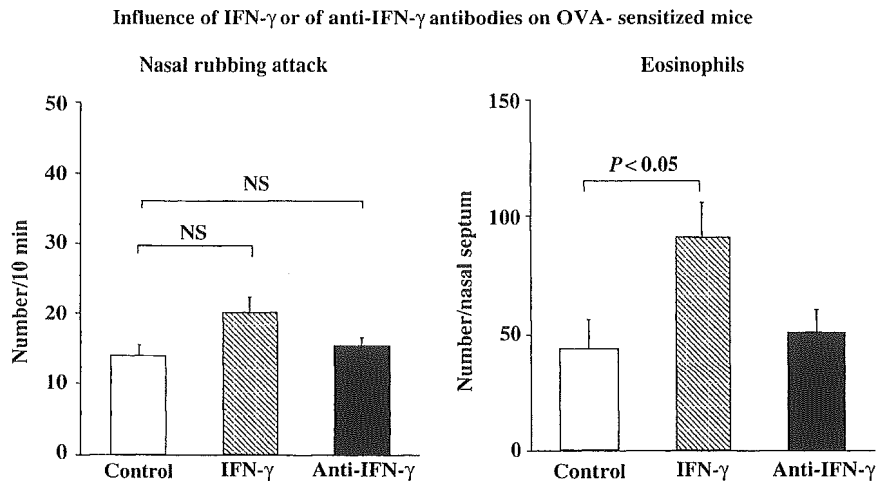


Fig. 4. Influence of IFN- γ and anti-IFN- γ antibodies on ovalbumin (OVA)-sensitized mice. The nasal administration of IFN- γ increased the number of eosinophils, but did not affect the nasal symptoms. Anti-IFN- γ treatment had no effect on either nasal symptoms or eosinophil numbers.

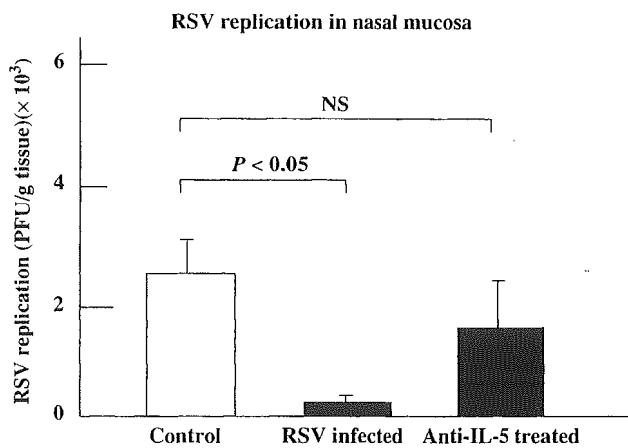


Fig. 5. Respiratory syncytial virus (RSV) replication in the nasal mucosa on day 4 after RSV inoculation. Replication was reduced in ovalbumin (OVA)-sensitized mice, but this reduction was abolished in anti-IL-5-treated OVA-sensitized mice. Non-OVA-sensitized mice were used as controls.

with a wide variety of biologic inflammatory effects, including changes in vascular permeability, mucous secretion, leucocyte chemotaxis and bronchoconstriction [39–41]. It is thus suggested that RSV-associated increase in allergic nasal hypersensitivity to OVA and possibly to other allergens may in part be related to activation of neuropeptide receptors during acute viral infection of the nasal mucosa.

It is possible that increased eosinophil recruitment is mediated by chemokines induced by IFN- γ . Recently induction of eotaxin 3 and IP-10 by IFN- γ in mucosal cell cultures has been demonstrated after experimental RSV infection in *in vivo* settings [42–44]. Based on these reports and the present studies, it is proposed that a possible relationship exists between IFN- γ and induction, recruitment and/or activation of eosinophils in allergic sensitization in the nasal mucosa during viral infections.

Acknowledgements

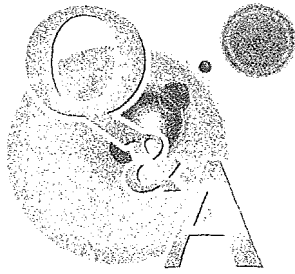
This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science and

Culture, Japan. The authors thank Professor Peary L. Ogra for helpful comments

References

- Green RM, Custovic A, Sanderson G, Hunter J, Johnston SL, Woodcock A. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. *BMJ* 2002; 324:1–5.
- Message SD, Johnston SL. Viruses in asthma. *Br Med Bull* 2002; 61:29–43.
- Gern JE. Viral and bacterial infections in the development and progression of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: s497–502.
- Johnston SL, Plattermore PK, Sanderson G et al. The relationship between upper respiratory infections and hospital admissions for asthma: a time-trend analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:654–60.
- Tuffaha A, Gern JE, Lemanske Jr RF. The role of respiratory viruses in acute and chronic asthma. *Clin Chest Med* 2000; 21:289–300.
- Schwarze J, Gelfand EW. The role of viruses in development or exacerbation of atopic asthma. *Clin Chest Med* 2000; 21:279–87.
- Johnston SL, Plattermore PK, Sanderson G et al. Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9–11 year old children. *BMJ* 1995; 310:1225–9.
- Makela MJ, Puhakka T, Ruuskanen O et al. Viruses and bacteria in the etiology of the common cold. *J Clin Microbiol* 1998; 36:539–42.
- Irwin RS, Madison JM. The diagnosis and treatment of cough. *N Engl J Med* 2000; 343:1715–21.
- Doyle WJ, Skoner DP, Fireman P et al. Rhinovirus 39 infection in allergic and non-allergic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89:968–78.
- Bardin PG, Fraenkel DJ, Sanderson G et al. Amplified rhinovirus colds in atopic subjects. *Clin Exp Allergy* 1994; 24:457–64.
- Avila PC, Abisheganaden JA, Wong H et al. Effects of allergic inflammation of the nasal mucosa on the severity of rhinovirus 16 cold. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:923–32.
- Folkerts G, Busse WW, Nikamp FP, Sorkness R, Gern JE. Virus-induced airway hyperresponsiveness and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1708–720.

- 14 Van Schaik SM, Welliver RC, Kimpen JK. Novel pathways in the pathogenesis of respiratory syncytial virus disease. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30:131-8.
- 15 Shay DK, Holman RC, Newman RD, Liu LL, Stout JW, Anderson LJ. Bronchiolitis-associated hospitalizations among US children, 1980-1999. *JAMA* 1999; 282:1440-6.
- 16 Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B. Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1501-7.
- 17 Sigurs N, Bjarnason R, Sigurbergsson F, Kjellman B, Bjorksten B. Asthma and immunoglobulin E antibodies after respiratory syncytial virus bronchiolitis: a prospective cohort study with matched controls. *Pediatrics* 1995; 95:500-5.
- 18 Hall CB, Hall WJ, Gala CL, McGill FB, Leddy JP. Long-term prospective study in children after respiratory syncytial virus infection. *J Pediatr* 1984; 105:358-64.
- 19 Eisen AH, Bacal HL. The relationship of acute bronchiolitis to bronchial asthma-a 4 to 14-year follow up. *Pediatrics* 1963; 31: 859-61.
- 20 Sims DG, Downham MAPS, Gardner PS, Webb JKG, Weighman D. Study of 8-year-old children with a history of respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy. *BMJ* 1978; 1:11-4.
- 21 Welliver RC, Duffy L. The relationship of RSV-specific immunoglobulin E antibody responses in infancy, recurrent wheezing, and pulmonary function at age 7-8 years. *Pediatr Pulmonol* 1993; 15:19-27.
- 22 Pullan CR, Hey EM. Wheezing, asthma, and pulmonary dysfunction 10 years after infection with respiratory syncytial virus in infancy. *Br Med J* 1982; 284:1665-9.
- 23 Ueba O. Respiratory syncytial virus I concentration and purification of the infectious virus. *Acta Med Okayama* 1978; 32:265-72.
- 24 Morimoto H, Murai M, Maeda Y et al. FK224, a novel cyclopeptide substance P antagonist with NK1 and NK2 receptor selectivity. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 262:398-402.
- 25 Mota I, Wong D. Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antiserum during the course of immunization. *Life Sci* 1969; 8:813-20.
- 26 Matsuoka T, Okamoto Y, Matsuzaki Z et al. Characteristics of immunity induced by viral antigen or conferred by antibody via different administration routes. *Clin Exp Immunol* 2002; 130: 386-92.
- 27 Sato M, Iwakabe K, Ohta A, Sekimoto M, Kimura S, Nishimura T. Self-priming cell culture system for monitoring genetically controlled spontaneous cytokine-producing ability in mice. *Immunol Lett* 1999; 70:173-8.
- 28 Shankar AH, Titus RG. T cell and non-T cell compartments can independently determine resistance to *Leishmania major*. *J Exp Med* 1995; 181:845-55.
- 29 Fryer AD, Jacoby DB. Parainfluenza virus infection damages inhibitory M₂ muscarinic receptors on pulmonary parasympathetic nerves in the guinea-pig. *Br J Pharmacol* 1991; 102:267-71.
- 30 Jacoby DB, Fryer AD. Interaction of viral infections with muscarinic receptors. *Clin Exp Allergy* 1999; 29: 59-64.
- 31 Adamko DJ, Yost BL, Gleich GJ, Fryer AD, Jacoby DB. Ovalbumin sensitization changes the inflammatory responses to subsequent parainfluenza infection: eosinophils mediate airway hyperresponsiveness, M₂ muscarinic receptor dysfunction, and antiviral effects. *J Exp Med* 1999; 190:1465-77.
- 32 Domachowske JB, Dyer KD, Adams AG, Leto TL, Rosenberg HF. Eosinophil cationic protein 1 R Nase 3 is another RNase A-family ribonuclease with direct antiviral activity. *Nucleic Acids Res* 1998; 26:5327-32.
- 33 Kay AB. Modulation of eosinophil function in vitro. *Clin Exp Allergy* 1990; 20:31-4.
- 34 Terada N, Konno A, Tada H, Shirotori K, Ishikawa K, Togawa K. The effect of recombinant human interleukin-5 on eosinophil accumulation and degranulation in human nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90:160-8.
- 35 Young HA, Hardy KJ. Role of interferon-gamma in immune cell regulation. *J Leukocyte Biol* 1995; 58:373-81.
- 36 Piedimonte G, Rodriguez MM, King KA, McLean S, Jiang X. Respiratory syncytial virus upregulates expression of the substance P receptor in rat lung. *Am J Physiol* 1999; 277:L831-40.
- 37 King KA, Hu C, Rodriguez MM, Jiang X, Piedimonte G. Exaggerated neurogenic inflammation and substance P receptor upregulation in RSV-infected weanling rats. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24:101-7.
- 38 Tripp RA, Barskey A, Goss L, Anderson LJ. Substance P receptor expression on lymphocytes is associated with the immune response to respiratory syncytial virus infection. *J Neuroimmunol* 2002; 129:141-53.
- 39 Konno A, Numata T, Terada N, Hanazawa T, Nagata H, Motosugi H. Role of substance P in the vascular response of nasal mucosa in nasal allergy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1996; 105:648-53.
- 40 Gungor A, Baroody FM, Naclerio RM, White SR, Corey JP. Decreased neuropeptide release may play a role in the pathogenesis of nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 121: 585-90.
- 41 Okamoto Y, Shirotori K, Kudo K et al. Cytokine expression after the topical administration of substance P to human nasal mucosa. *J Immunol* 1993; 151:4391-8.
- 42 Yamamoto S, Kobayashi I, Tsuji K et al. Upregulation of IL-4R by IFN- γ : enhanced IL-4 induced eotaxin-3 production in airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004.
- 43 Azuma MA, Szczepanik M, Tsuji RF et al. Early delayed-type hypersensitivity eosinophil infiltrates depend on T helper 2 cytokines and interferon- γ via CXCR3 chemokines. *Immunology* 2004; 111:306-17.
- 44 Li H, Chunsong H, Guobin C et al. Highly up-regulated CXCR2 expression on eosinophils in mice infected with *Schistosoma japonicum*. *Immunology* 2004; 111:107-17.



Question

花粉症の民間療法の効果とは？

花粉症の民間療法は効果があるのですか？

民間療法とは通常医師が医療施設において施行や指導する以外の医療で、その多くは作用機序が科学的には検証されていないものと考えられています。米国ではアレルギー性鼻炎に対して薬草関連、カフェイン関連、ホメオパシー、灸、アロマ療法、マッサージなどが行われているようですが、国内で以前行った調査でも多彩な民間療法が行われており、このうち頻度の高いものとして、漢方（医師の処方によらないもの）、甜茶、鼻スチーム療法、鼻内洗浄、クロレラ、ハリ、花粉グミ、シジュウム茶、灸、ツボ、情報水、シジュウム入浴剤、波動水、スギの葉エキスなどがありました（表）。

これらの民間療法の効果を患者へのアンケート調査から評価してみると、治療内容によって異なりますが、代表的なものに対しては、漢方薬（医師の処方によらないもの）では効果あり50%、効果なし35%、不明15%、甜茶に対しては効果あり14%、効果なし51%、不明35%、鼻スチーム療法は効果あり46%、効果なし44%、不明10%というところでした。すなわち、患者さん自身の評価ですが、漢方やスチーム療法などでは40%以上の有効率も示されましたが、多くのものは20~30%以下で、有効率が高いものでも、逆に効果を認めなかったとする率が高いのも特徴でした。

前述しましたが、このような民間療法の科学的評価についてはほとんど行われていません。ただ、確かにストレスの改善がはかられ、体への有害成分が含まれていなければ民間療法に問題はないとも考えられます。しかし、アレルギー性鼻炎に効果があるといったことを公言し販売するなら、やはりその疾患に対する有効性を示す必要があります。しかし、残念ながら民間療法の多くに十分な効果の根拠があるとはいえません。特に、アレルギー性鼻炎や花粉症の治療では、プラセボ効果が高いことが知られています。通常の薬物の開発で行われる inactive placebo（ダミー）とのランダム化二重盲検試験の結果でも、30%を超えるプラセボの有効率がみられたと

Answer

岡本美孝

（千葉大学大学院医学研究院
耳鼻咽喉科学）

民間療法
花粉症

表 350名の民間療法を受けた患者さんの治療内容

・漢方薬	136名	・シジュウム茶	9名
・甜茶	104名	・灸	9名
・鼻スチーム療法	67名	・ツボ	7名
・鼻内洗浄	33名	・情報水	7名
・クロレラ	32名	・シジュウム入浴剤	7名
・鍼（はり）	19名	・波動水	4名
・花粉グミ	17名	・スギの葉エキス	2名
・シソジュース	13名	・プロポリス	2名
・サルノコシカケ	12名	・シソの実油	2名

その他：アロエエキス、シソエキス、シソ飴、シソの葉、青汁、甜茶ガム、花粉症スッキリ飴、ラブレ菌、竹炭入浴、ミントガム、ギムネマ茶、ルイボス茶、ハーブ茶、ドクダミ茶、野草茶、ニンジンジュース、きな粉牛乳、ウコン など

の報告もあり、薬物の治療効果にはこのようなランダム化二重盲検試験が不可欠です。その他、安全性が危惧される民間療法も指摘されています。例えば、薬草療法で比較的広く用いられている *ehedra* は重篤な心血管障害、神経障害を引き起こす可能性があり、また、漢方薬（医師の処方によらないもの）には重金属や毒性物質の汚染の可能性があること、同じ薬草でもその産地などによる組成の違いなども意外に知られていません。民間療法がもつ危険性については、患者さんにほとんど情報は伝わっておらず、患者さんが民間医療に頼った結果、通常の医療に対する受け入れが低下してしまい、コンプライアンスが低下してしまうことが指摘されています。

民間療法には効果が期待されるものもあります。ただ、残念ながらその効果について十分な評価が行われていないのは事実です。

民間療法： 医師が医療施設で施行する以外の治療で、多くは作用機序が科学的に検証されていない。

花粉症： アレルギー性鼻炎のうち、花粉を原因抗原とするもの。IgE抗体を介したI型アレルギー反応により、通常発作性のくしゃみ、水性鼻漏、鼻閉、眼のかゆみなどが主症状。

民間療法の中には効果が期待されるものも確かにあります。ただ、残念ながらその効果について十分な評価が行われていないのは事実です。今後、検討が進んでいくことが期待されますが、それまでは少なくとも評価が行われている有効な治療法を医師と十分に相談しながら使用されることをおすすめします。

鼻アレルギー

Allergic rhinitis

岡本美孝

Key words : 鼻アレルギー, Th1細胞, Th2細胞, 鼻アレルギーの検査, 鼻アレルギーの診断, 鼻アレルギーの治療

1. 概要

アレルギー性鼻炎は好発時期から、通年性(perennial allergic rhinitis)と季節性(花粉症: seasonal allergic rhinitis)に大別される。他の多くの疾患と同様に、発症には遺伝要因と環境因子が関与し、特に遺伝要因の関与は大きい。最近の疫学調査からは、アレルギー性鼻炎は20%を超える高い有症率が示されている。現在も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考えられる¹⁾。日本におけるアレルギー性鼻炎の特徴は、スギ花粉症の占める割合が高いことである。スギ花粉症の有症率は、スギ植生のほとんどない北海道、沖縄を除いて、最近の報告をみると、10-40%であるが調査地域、調査方法によって異なる。高校生、大学生のスギ花粉に対する感作率は50-80%にも上っている。更に当科での10年にわたる縦断的疫学調査では、40-60歳の中高年でもIgE抗体価の低下はみられず、逆に感作者の中での有症率はむしろ高くなる傾向があり、今後もスギ花粉症がますます増加することが危惧される。一方でスギ花粉症の自然寛解は中高年では10-20%、小児ではまれである^{2,3)}。

2. 病態

代表的なI型アレルギー疾患と考えられてき

たアレルギー性鼻炎も、好酸球をはじめとする種々の炎症細胞の関与が注目され、アレルギー炎症としての性格がクローズアップされているが、その根底にはT細胞分化に問題があるとされている。

ヘルパーT細胞(Th)は、どのようなサイトカインを産生するかにより、Th1細胞(IFN- γ , IL-2, IL-12などを産生)とTh2細胞(IL-4, IL-5, IL-13などを産生)とに大別される⁴⁾。通常、抗原呈示細胞から抗原刺激を受けたナイーブなヘルパーT細胞(Th0)は、バランス良くTh1/Th2細胞に分化するが、アレルギー疾患ではTh2細胞に優位に分化され、Th1細胞とTh2細胞にアンバランスが生じていると考えられている。

確かに、アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜と非アレルギー性肥厚性鼻炎患者の鼻粘膜よりそれぞれCD4T細胞を分離し、Th1細胞、Th2細胞にそれぞれ特異的に発現するケモカイン受容体CXCR3, CCR4を利用して検討を行ってみると、Th1細胞については両群間に差は認められないものの、Th2細胞は有意にアレルギー性鼻炎患者で増加がみられる(図1)。また、末梢血中には元来、Th2細胞に比較してかなりTh1細胞が多い。アレルギー性鼻炎患者でも、非アレルギー性鼻炎患者と同じようにTh1細胞が多く、非アレルギー性健康人と差は認められない^{5,6)}。しかし、これはあくまで全体のTh1細胞、Th2細胞を検

Yoshitaka Okamoto: Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University 千葉大学大学院医学研究院 耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学

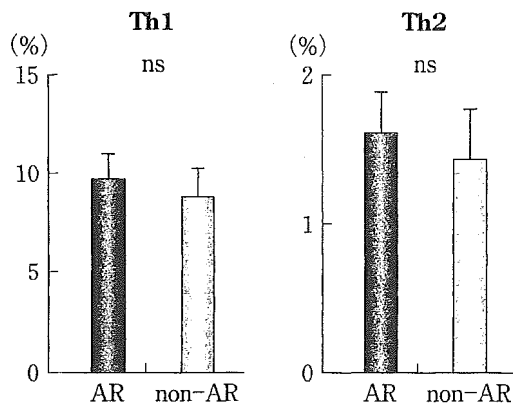


図1 末梢血中のTh1およびTh2細胞の割合⁵⁾

アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜中のCD4陽性T細胞に対するTh1細胞(CXCR3陽性)の割合は、非アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜と比較して差は認められないが、Th2細胞(CCR4陽性)の割合は高い。

AR: allergic rhinitis, non-AR: non-allergic rhinitis.

討している場合であり、抗原特異的なTh1, Th2細胞は全体のtotalのTh1, Th2細胞の0.1%以下と考えられており、スギ花粉症患者の末梢血中のスギ花粉特異的なTh1細胞, Th2細胞を患者自身の樹状細胞,あるいはペプチドを利用して検討してみると明らかにスギ花粉抗原特異的Th2細胞がTh1細胞に比較して多数認められる⁶⁾(図2)。

Th2細胞およびTh2サイトカインが優位な環境下では、スギ花粉の曝露・進入により、スギ花粉特異的Th2細胞が誘導され、鼻粘膜局所あるいは頸部リンパ節において抗原特異的Th2細胞のサポート下にスギ花粉特異的IgE抗体が産生される。IgE抗体は肥満細胞表面の高親和性Fcε受容体(FcεRI)と結合して肥満細胞を感作し、侵入して来るスギ花粉抗原と反応して、その結果肥満細胞からヒスタミン、ロイコトリエン、プロスタグランジン(PG)などが放出される。このうち、ヒスタミンは鼻粘膜知覚神経(三叉神経)終末のヒスタミン受容体(H1R)を刺激し、刺激はSP, CGRP陽性線維を介して順行性に延髄のくしゃみ中枢に伝えられ、迷走神経を介してくしゃみが引き起こされる。更に、くしゃみ中枢から分泌中枢に伝えられた刺激は、主に副交感神経から成る反射遠心路に伝えられ、副交感

神経が分布する鼻腺を刺激して鼻漏が生じる。一方、肥満細胞から放出されたペプチドロイコトリエン(pLTs: LTC₄, D₄, E₄)をはじめ、ヒスタミン, PG, PAFなどは直接鼻粘膜の血管に作用して、血管拡張、透過性亢進から容積血管のうっ血、浮腫により鼻閉を引き起こす。特に、pLTsの作用は強く、濃度換算するとヒスタミンの数十倍の強さをもつ。

他方、花粉症も含めてアレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜には好酸球をはじめ、好塩基球, T細胞など活性化を受けた多くの浸潤細胞が多数認められる。花粉症患者に、花粉の非飛散期に花粉抗原による誘発を行うと、即時相に引き続いて鼻汁中に一過性の好酸球浸潤がみられるが、誘発7-8時間以降、鼻汁中に再び好酸球, T細胞などの増加がみられ、この時期に一致して鼻閉の出現がみられるという。すなわち遅発相の存在である。花粉症も代表的I型アレルギー疾患であるが、同時に炎症反応としての性格をもつ。

このいわゆるアレルギー炎症の形成には、化学伝達物質, サイトカイン, ケモカイン, 細胞接着分子が複雑に関与する。すなわち、好酸球, 好塩基球, 肥満細胞, Th2細胞といったアレルギー炎症のplayerともいべき細胞の浸潤に、IL-4などのサイトカインによるVCAM-1をはじめとした血管内皮細胞上の接着分子の発現を介したtrapping, IL-5, IL-9, IL-13などのTh2サイトカイン, ケモカインによるtransmigration(遊走作用)が働く。特に、遊走作用にケモカインは強く関与する。好酸球, 肥満細胞, 一部Th2細胞上のCCR3を介したeotaxin, eotaxin-2, MCP-4, RANTESの作用, 肥満細胞やT細胞上のCCR2を介したMCP-1αなどの作用, Th2細胞上のCCR4を介した作用は大きい。ただ、鼻粘膜では、好酸球遊走には特にeotaxin, eotaxin-2の作用が強くRANTESの作用は弱いとされる。また、肥満細胞から放出されるPGD₂は、受容体の一つであるCRTH2を介して、好酸球, 肥満細胞, Th2細胞の遊走, 活性化, 更にはTh2サイトカイン産生の増強に作用する⁷⁾。一方で、IL-4などTh2サイトカインや肥満細胞が大量に含むTNF-αなど炎症サイトカインによ

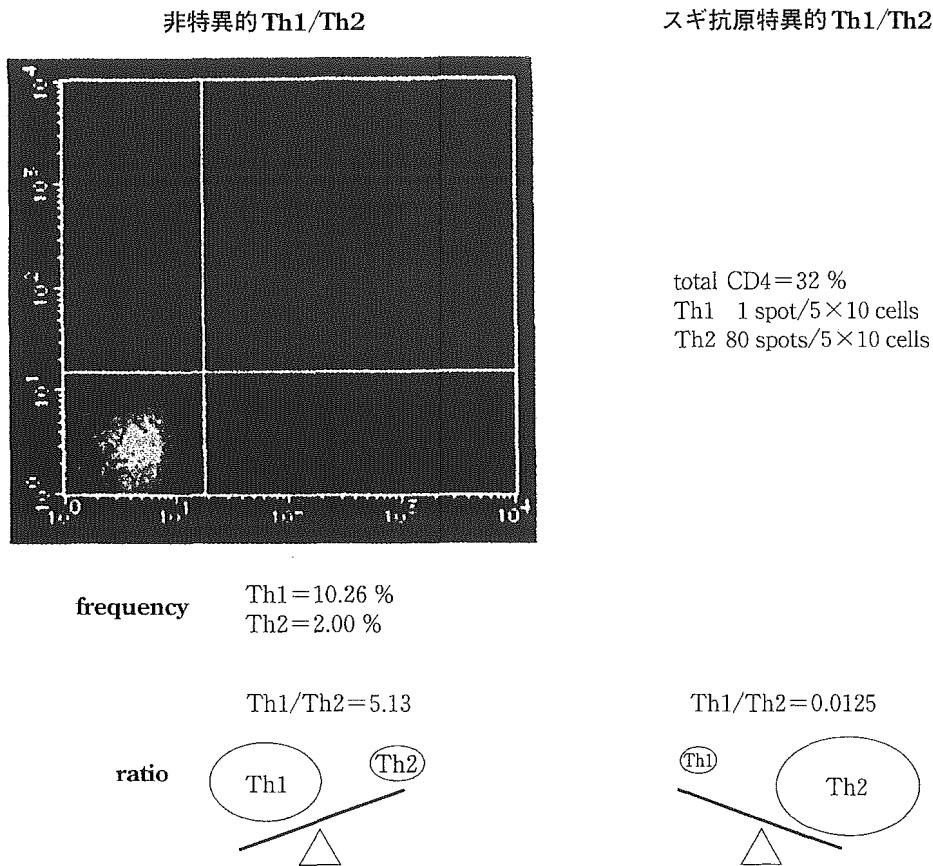


図 2 末梢血 CD4 陽性 T 細胞中の Th1/Th2 細胞
 スギ花粉症患者末梢血のスギ花粉特異的 Th1 細胞, Th2 細胞は Th2 細胞が圧倒的に多い。

り, 上皮細胞, 線維芽細胞, 単核球からの TARC や eotaxin など Th2 細胞, 好酸球などアレルギー炎症に重要な細胞の遊走に作用するケモカインの産生が増強される。

このように, アレルギー性鼻炎患者で認められる Th2 細胞が優位な環境は, アレルゲンに対する特異的 IgE 抗体の産生, 肥満細胞, 好酸球の遊走, 活性化, 脱顆粒といった I 型アレルギー反応の誘導から, 複雑にアレルギー性炎症の形成に作用していくものと考えられる。

3. 検査と診断

問診, 鼻鏡検査, 鼻汁好酸球検査から, 過敏性の有無, アレルギーの有無を判断する。問診では症状とその程度以外に, 好発期, 合併症, 既往歴, 家族歴も重要である。典型的なアレルギー性鼻炎患者では, 蒼白に浮腫状に腫脹した鼻粘膜と水様性分泌液が鼻鏡で観察される。し

かし, 鼻粘膜の発赤を示す症状も少なくない。ハンセル染色にて容易に好酸球の浸潤の有無が認められる。アレルギーが強く疑われれば, 皮膚テスト(安価, 感度良, 痛み有, 結果は即時に), 血清特異 IgE 抗体定量(高価, 敏感, 痛み弱い, 結果得るまで数日), 更に誘発テストにより診断・治療方針の決定に進む。誘発テストでは, 両側下鼻甲介前端に抗原ディスクを置き, 5 分間に生じるくしゃみの回数, 鼻汁量, 粘膜腫脹度から判定する。非特異的反応に注意しなければならない。

鼻のかゆみ, くしゃみ, 水様性鼻漏, 鼻閉といった鼻炎症状をもち, 鼻汁好酸球検査, 皮膚テスト(または血清 IgE 抗体陽性), 誘発テストのうち 2 つ以上陽性ならばアレルギー性鼻炎と確診する。一方, このうち 1 つのみ陽性であっても典型症状を有し, アレルギー検査が中等度以上陽性ならアレルギー性鼻炎と診断して可能

である。鑑別として、非アレルギー性非感染性の鼻粘膜過敏症として、血管運動性鼻炎、好酸球過多性鼻炎が重要である。前者は、症状はありながらも鼻汁好酸球陰性、皮膚テスト・血清IgE抗体陰性であり、後者は鼻汁好酸球検査は陽性であるが、皮膚テスト・血清IgE抗体は陰性である。また、感染性鼻炎として、急性鼻炎、いわゆるかぜとの鑑別も重要である。かぜでは、鼻汁中に好中球や剥落上皮細胞が主体であること、咽頭熱や発熱、関節痛などの全身症状をもつ頻度が高いこと、多くはウイルス感染だが、2次感染を生ずると粘性、膿性に鼻汁が変化することが特徴であるが、アレルギー性鼻炎との鑑別は必ずしも容易でないときもある。

4. 治療

治療の原則は、患者に機能障害をもたらさずいかに症状を良くコントロールするかであり、以下の点が重要である。

- (1) 抗原の回避、ならびに増悪因子の回避
- (2) 適切な薬物治療
- (3) 免疫療法の選択と適応の判断
- (4) 手術治療の選択と適応の判断
- (5) 患者の指導、その長期フォローアップ

a. 抗原回避

アレルギー疾患である以上、抗原回避は治療の第一歩であり基本となる。ただ、例えば、マスクの効果についても、完全に鼻への侵入を妨げるものではなく、実際の効用については更に具体的な臨床評価が必要である。

b. 薬物治療

現在、アレルギー性鼻炎の治療には表1に示すようなカテゴリーの薬剤が用いられている。最近は、第2世代後期、更には次世代抗ヒスタミン薬とも分類されるようなヒスタミン受容体(H1)拮抗薬が登場あるいは開発・治験が進行している。第2世代の抗ヒスタミン薬は中枢鎮静作用が少ないことが特徴であるが、次世代抗ヒスタミン薬の多くは、第2世代ヒスタミン薬の構造を変化され、代謝活性型あるいはisomerとしたものでフェキソフェナジンやデスロラタジンを代表とし、鎮静作用はプラセボと同程度で

表1 通年性アレルギー性鼻炎の治療¹⁾

病型	重症度		
	軽症	中等症	重症
治療	① 第2世代抗ヒスタミン薬 ② 遊離抑制薬	くしゃみ・鼻漏型 ① 第2世代抗ヒスタミン薬 ② 遊離抑制薬 ③ 局所ステロイド薬 ①、②、③のいずれか1つ 必要に応じて①または②に③を併用する	鼻閉型 局所ステロイド薬 + 第2世代抗ヒスタミン薬 + 局所ステロイド薬 + 局所ステロイド薬 必要に応じて点鼻用血管収縮薬を治療開始時の5-7日間に限って用いる
			くしゃみ・鼻漏型 + 鼻閉型 鼻閉型で鼻腔形態異常を伴う症例では手術 特異的免疫療法 抗原除去・回避

症状が改善してもすぐには投薬を中止せず、数カ月の安定を確かめて、ステップダウンしていく。

あり、かつ心臓に対する副作用もみられていない。

実際の薬物投与にあたっては、重症度に応じてその step down を図ることに主眼が置かれている(表 1)。中等症以上の症例には前述した即時相と炎症反応の抑制と 2 つを目的とした治療が行われ、即時相の抑制には効果性の高い抗ヒスタミン薬の内服あるいは点鼻薬、炎症反応の抑制には点鼻用ステロイド剤、あるいは化学伝達物質遊離抑制薬(肥満細胞安定薬)が用いられることが多い。ただ、抗ヒスタミン薬は H1 受容体拮抗作用が中心であるが、新しい抗ヒスタミン薬は抗炎症作用を併せ持つことが、*in vitro* の検討や動物実験で示されている。好酸球浸潤・増多抑制、IL-1、IL-6 など炎症サイトカイン産生抑制、ICAM-1 などの接着分子や HLA 抗原発現抑制、ロイコトリエン遊離抑制、タキニン遊離抑制など、その内容も非常に豊富であるが、他方で、実際の臨床投与量で、また実際のアレルギー性鼻炎患者に対する薬効の中で、どの程度このような抗ヒスタミン薬の炎症作用が働いているのかはほとんど明らかになっていない。

その他の化学伝達物質拮抗薬として、抗ロイコトリエン(LT)薬、抗トロンボキサン(TX)薬が登場した。抗 LT 薬は LT 受容体 1 に対する拮抗作用をもち、鼻閉に対する高い効果が臨床検討でも認められているが、くしゃみ、鼻漏に対する抑制作用もみられ、その機序として好酸球浸潤抑制などを介した鼻粘膜過敏性改善といった抗炎症作用が示唆されている。また、抗 TX 薬も鼻閉に対して高い効果が示されているが、くしゃみ、鼻漏に対する効果も併せ持ち、その抗炎症作用が検討されている。ラマトロバンは、前述した PGD₂ と CRTH2 の阻害作用をもつことが示されている。

c. 免疫療法(減感作療法)

アレルギー性鼻炎に対する免疫療法は、1911 年 Noon らの報告以来長い歴史をもつ。皮内投与として行われてきたが、近年、欧米では多くの二重盲検比較試験が行われ、その有効性が評価されている。国内では、スギ花粉抗原の標準化が行われ、より安定した高い効果の発現が期

待されている。また、頻度は少ないとされながらもアナフィラキシー反応などの副作用発現の危険、臨床効果発現まで時間もかかり、患者負担の評価、QOL の評価も十分には行われていない。しかし、重症例、薬物使用の減少・回避を希望する患者で十分な同意が得られた場合には積極的な適応を考えるべきである。

d. 手術療法

根本的治療ではなく、疾患の性格上 first choice にはならないが、保存的治療に対して効果が乏しい、あるいは鼻中隔彎曲など元来鼻の構造異常が認められる症例に対しては、むしろ積極的に施行を検討すべきである。外来手術が可能なレーザー手術治療は広く行われているが、効果の持続、再発の時期、程度に関して十分解明されていない。

5. 現在臨床検討中の新しい治療法

a. 抗 IgE 療法

I 型アレルギー疾患であるアレルギー性鼻炎は、当然 IgE に大きく依存するが、IgE ϵ 受容体(R)1 結合を阻害することで、その制御を目的としたものである。既にヒト化抗 IgE 抗体(rhu Mab-E25)を用いた臨床試験は、欧米で修了し、一定の評価を得ており、国内でもスギ花粉症の時期に臨床試験が行われ解析が進んでおり、新しいカテゴリーの治療法として注目されている。この抗 IgE 抗体は、血清中の IgE や B 細胞表面に結合している IgE とは結合するが、Fc ϵ R1 あるいは Fc ϵ R2 と結合している IgE には結合しないため、I 型反応を引き起こすことはないとされるこれまでの検討から、血清中 IgE を著明に減少させること、抗原特異的 IgE 産生を抑制すること、T 細胞から Th2 サイトカインの産生を抑制すること、好酸球浸潤を抑制することが作用機序として示されている。

b. 減感作療法

経口投与、舌下投与、経鼻投与といった自宅で投与可能で、副作用の軽減も期待される投与方法が検討されている。

c. ペプチドワクチン

T 細胞によって認識される抗原ペプチド、す

なわちT細胞エピトープを用いて抗原特異的なT細胞のトランスの誘導を図るもので、抗原ペプチドそのもの、あるいは一部アミノ酸を変換した修飾ペプチドを用いる。B細胞には結合しないため、通常の抗原を用いた減感作療法のような副作用が生じない。多量のペプチド抗原の投与が可能で、早期に臨床症状の改善が期待される。既にハチアレルギーやBermuda花粉症などで臨床上的有効性が報告されている。スギ花粉症でも、スギ花粉抗原の主要なT細胞エピトープが解析され、Cry j-1の3カ所、Cry j-2の4カ所の7つのエピトープに対するスギ花粉症患者のリンパ球混合試験での反応性は、16-68%と高く、更にこれら7つのT細胞エピトープをリジンで結合したハイブリッド・ペプチドを用いると、スギ花粉患者の92%に反応が認められている。本ペプチドを用いた臨床試験が進んでいる。

d. DNA ワクチン

微生物由来DNAには、ホ乳類には存在しないメチル化されていないAACGTTなどのCpGの配列があり、Th1型免疫反応の誘導能があり、NK細胞、樹状細胞、T細胞を活性化し、IFNやIL-12の産生を促進する。このようなTh1型T細胞反応を誘導するアジュバントとしてアレルゲンと投与したり、あるいはDNAワクチンとして、抗原遺伝子を組み込んだプラスミドDNAを生体に投与し、生体内に抗原蛋白質を発現させることで、抗原特異的免疫反応を長時間継続的に誘導するものである。ただし、自己免疫疾患発症の危険などの指摘もある。

e. BCG ワクチン

BCGを用いてTh2サイトカイン産生にシフトした患者の是正を図ろうとするもので⁸⁾、スギ花粉症に対する臨床検討が進んでいる。

■ 文 献

- 1) 鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会: 鼻アレルギー診療ガイドライン, ライフ・サイエンス社, 2002.
- 2) Okawa T, et al: Analysis of natural history of Japanese cedar pollinosis. *Int Arch Allergy Immunol* 131: 39-45, 2003.
- 3) Okamoto Y, et al: Allergic rhinitis in children: environmental factors. *Clin Exp Allergy reviews* 4: 9-14, 2004.
- 4) Mosmann TR, et al: Two types of murine helper T cell clone. *J Immunol* 136: 2348-2357, 1986.
- 5) Horiguchi S, et al: Expression of membrane-bound CD23 in nasal B cells from patients with perennial allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* (in press)
- 6) 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.
- 7) Hirai H, et al: Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J Exp Med* 193: 255-261, 2001.
- 8) Cavallo GP, et al: Decrease of specific and total IgE levels in allergic patients after BCG vaccination. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 128: 1058-1060, 2002.

『鼻アレルギー診療ガイドライン』(PG-MARJ 2005)
—改訂のポイントと展望—



岡本 美孝

I. 『鼻アレルギー診療ガイドライン』(PG-MARJ 2005)
改訂のポイント
3. 小児の鼻アレルギー
—ガイドラインの改訂ポイントと今後の展望—

Okamoto Yoshitaka
岡本 美孝Yonekura Shuji
米倉 修二Kunii Naoki
國井 直樹*

*千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科学

はじめに

『鼻アレルギー診療ガイドライン』2005年版(改訂第5版)¹⁾は、前版と比較して小児の鼻アレルギーに関して大きな変更はなく、追加記載も少ないが、ガイドラインとしては十分な記載である。ただ、小児の鼻アレルギーに関する情報、臨床研究、調査が非常に不足している。小児アレルギー性鼻炎の治療には、喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーといった小児アレルギー疾患全体をとらえ、その相互の理解から根本的対応を図る必要がある。そのためにも、小児の鼻アレルギーの発症、経過を明らかにすることが重要であり、この中に解決の糸口が潜んでいることも期待される。

本稿では、今回の改訂版の中の記載のポイントをまとめ、その実際の注意点とさらに今後の臨床データの蓄積、臨床研究の必要性について述べてみる。

2005年版ガイドラインから：「小児アレルギー」診療のポイントとなる特徴

1. 臨床像から

- ・思春期までは男児に多い。
- ・喘息の合併が高い。
- ・年少児ではアトピー性皮膚炎の合併、先行がみられる。
- ・自然治癒が喘息より少ない。
- ・血管運動性鼻炎、好酸球増多性鼻炎は少ない。

・滲出性中耳炎、慢性副鼻腔炎、扁桃肥大、鼻出血の合併が多い。

・その他、allergic salute, allergic crease, allergic shineといった症状、所見がみられることがある。

2. 原因抗原

・ダニ(HD)が圧倒的に多いが、ペット、アルテルナリアアレルギーの合併もある。

・スギ花粉症の合併が増加している。

3. 検査・診断

・成人同様、原因抗原の検索が重要である。

・誘発テスト、皮膚テストは実施困難なことが多い。

・臨床症状、局所所見、血清特異的IgE抗体などから診断を行う。

・感染性副鼻腔炎の合併が多い。

4. 治療

・親とのコミュニケーションの重要性が高い。

・上気道炎の治療も重要である。

・抗原回避の指導(ダニ、ペット)が必要である。

・薬物治療では小児用剤型、小児適応の薬物が少ない。

・投与量は、小・中学生は成人の半量が原則である。

・抗ヒスタミン薬の中枢抑制副作用が出現しにくい。が、逆に興奮作用が出ることもある。

・局所薬使用前には鼻をかませる指導が必要。

・点鼻用血管収縮薬は希釈するが、乳児では原則禁忌。

・鼻噴霧用ステロイド薬は、用量を厳守させ漫然とは使用させない。

・特異的免疫療法は6歳以上が適応。喘息合併例で

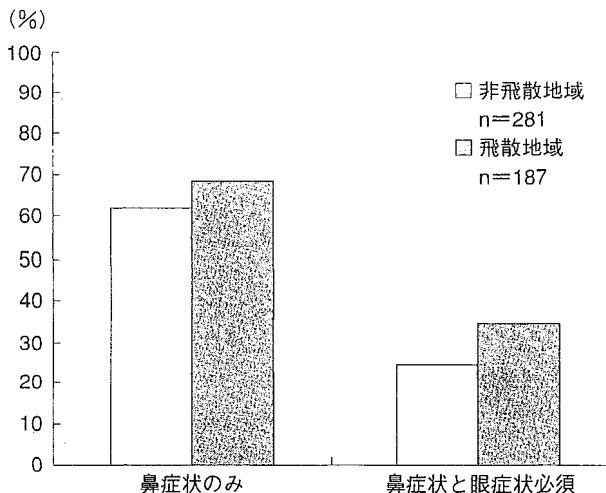


図1 アンケート結果のみから推測したスギ花粉症有症率 (鼻症状のみの場合と鼻症状と眼症状をともに必須とした場合の比較)

保護者へのアンケート調査からの小学生のスギ花粉症の有症率。「2～4月に風邪でもないのに鼻みず、くしゃみ、鼻づまりといった症状が出現しますか」との質問に、保護者が「ある」と答えた児童をスギ花粉症とすると、高い有症率になってしまう。

は投与量に特に注意が必要である。

- ・CO₂レーザー治療は適応を十分考慮して行う。
- ・関連疾患(滲出性中耳炎, 扁桃炎)の治療は互いに関連し重要である。

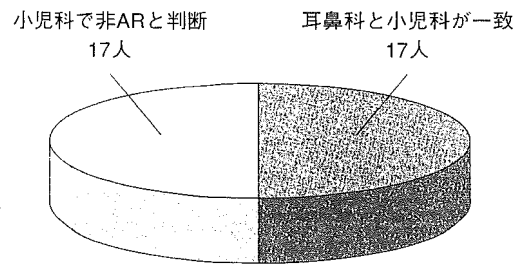
今後の展望

1. 臨床像, 原因抗原に関連して

小児アレルギー性鼻炎, 特に花粉症の発症増加が指摘されているが, 定期的な実態調査が重要である。アンケート調査は有用であるが, その方法, 結果の評価については慎重な対応が必要である。

われわれが本年行った小学校の検診²⁾でも, 例えばスギ花粉症の調査において, 「2～4月に風邪でもないのに鼻みず, くしゃみ, 鼻づまりといった症状が出現しますか」との質問に70%の保護者が「ある」と答えた。小児アレルギー性鼻炎の増加がみられ, お子様の調査を行うといった前もつての説明が, 高い関心を生んだことが考えられる。これは眼のかゆみといった症状の併発を加えると30%台になり, スギ花粉症の実態に近いことが考えられた(図1)。

ただし, 本調査では同時に血清特異的IgE抗体検査(CAP-RAST)を行ったが, スギ花粉に対する感作陽性率は60%の小学生に認められた。感作, 発症の増加が進んでいることは間違いない。



- ・小児科で非ARと判断した17人の検討 (すべての症例でHD, スギCAP-RASTのいずれかが陽性)
 - 3人: 明らかな鼻過敏症状と典型的な鼻内所見があることで診断
 - 9人: 典型的な鼻内所見, 鼻汁中好酸球陽性
 - 5人: 典型的な鼻内所見
- 詳細な問診で鼻過敏症状があることが判明 ←

図2 小児アレルギー患者のアレルギー性鼻炎(AR)の合併の有無

小児喘息, アトピー性皮膚炎あるいは食物アレルギーの患児のアレルギー性鼻炎の合併。

2. 診断・検査に関連して

診断法についてはガイドラインの記載どおりであるが, 実際に丁寧な診察が必要である。喘息, アトピー性皮膚炎, あるいは食物アレルギーで通院中の児童(平均4.7歳, 59人)の鼻アレルギーの調査を行ったところ, 保護者・本人の鼻症状の訴えと, 血清特異的IgE抗体陽性から, 多数の鼻アレルギーを合併する児童がみられた³⁾。すなわち, 喘息やアトピー性皮膚炎患児の親は, それらの症状には関心が高くとも, 鼻閉やくしゃみといった鼻症状には関心が低いことが多く, 鼻汁中好酸球検査陽性, 鼻内所見(浮腫状粘膜, 水様性鼻分泌物)から鼻アレルギーを疑い, 保護者・本人に詳細に問診すると, 鼻過敏症状の存在を聞き出せることが少なくない。特に小児では, 鼻汁スメア, 鼻内所見の把握は重要である(図2)³⁾。

また, この検討結果から, 喘息通院患児(31人, 平均5.9歳)では, 71%に喘息は合併していないアトピー性皮膚炎, あるいは食物アレルギーで通院中の患児(23人, 平均2.7歳)では, 39%にアレルギー性鼻炎の合併がみられる。また, 河野, 下条ら小児科医の喘息患児約280人の保護者へのアンケート調査から, 高い割合で鼻症状がみられ, このうちの約20%では喘息発症に先行して鼻症状がみられたと報告している⁴⁾。そして, このような鼻症状先行型の場合の鼻症状発現時期は, 平均1.4歳と低年齢である。アレルギー性鼻炎とほかのアレルギー疾患との発症や症状の関連を明らかにする意義は高い。アレルギー性鼻炎の増加や発症の低

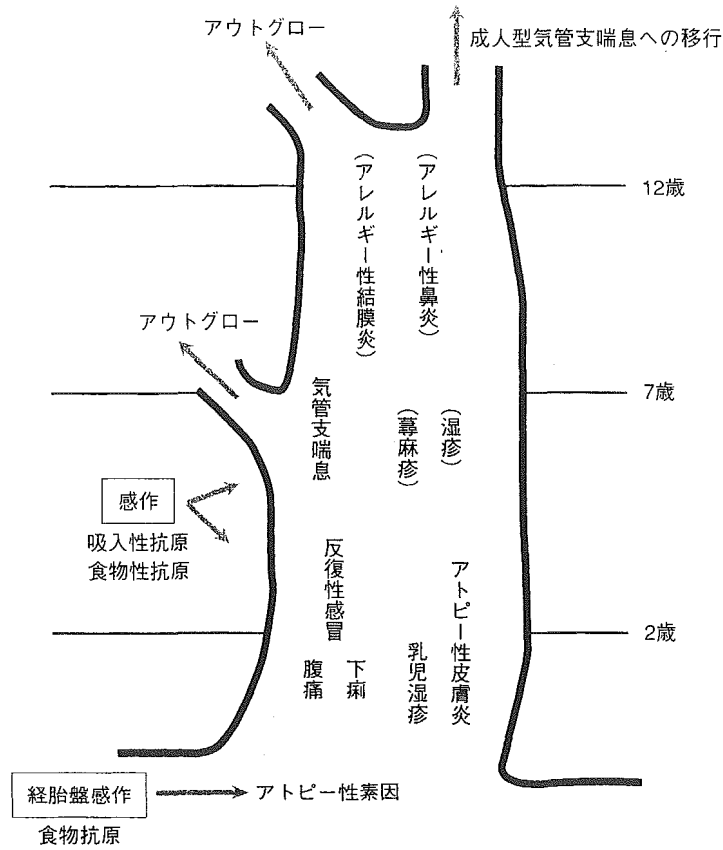


図3 いわゆる古典的アレルギーマーチ(馬場 実らによる)
小児アレルギー性鼻炎の増加, 低年齢化がみられている。

治療開始時16歳以下: 39人

- ・減感作療法2~10年: 17人(男9, 女8)
- ・薬物療法: 15人(男8, 女7)
- ・減感作療法2カ月~1年: 7人(男7)

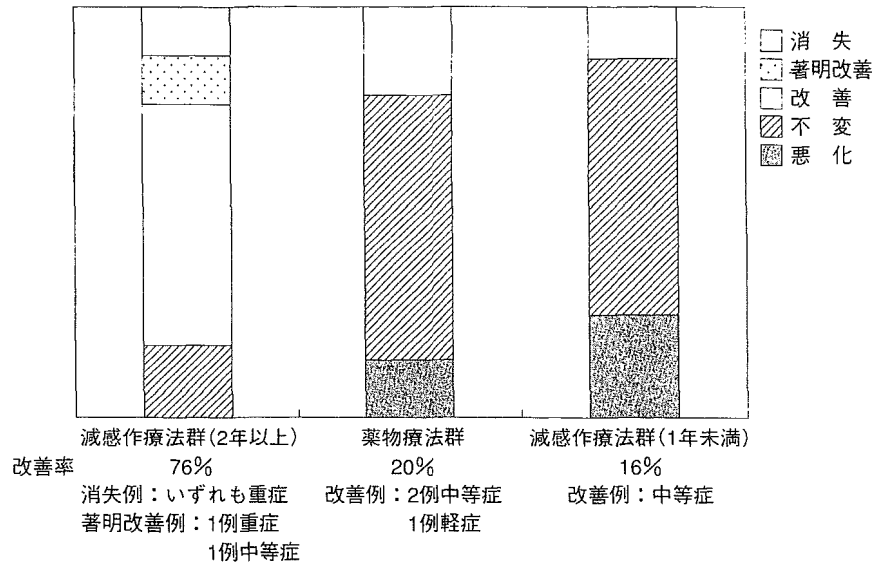


図4 小児スギ花粉症患者の長期予後(千葉大学耳鼻咽喉科)

1980年代にスギ花粉症で治療を受けた16歳以下の小児の最近2~3年の症状(岡本美孝ほか:小児アレルギー性鼻炎の成人への移行を阻止するための治療法の確立に関する研究.平成16年度厚生労働省科学研究費補助金報告書, pp.17-18, 2005).

年齢化, さらにアトピー性皮膚炎の再燃の増加などの点からも古典的アレルギーマーチを見直し, これら疾患の相互関連を明らかにしていく必要がある(図3).

3. 治療

小児アレルギー性鼻炎の長期予後についての報告は少なく, 現在厚生労働省班研究で行われている⁴⁾が, 自然治癒や改善は少なく, 多くはそのまま成人に移行してしまう. 特にスギ花粉症で顕著である. しかし, 特異的免疫治療を受けた患児では, 消失こそ少ないが, 高い改善率が認められる(図4). ただ, 皮下投与のため頻回な通院が必要で, また喘息発作などの副作用発現もみられ, 患児の負担は大きい. この負担の軽減を図る意味から舌下減感作療法が期待される. もちろん, 今後有効性, 安全性の十分な評価, また効果発現のバイオマーカーの確定も必須である. さらに, 鼻アレルギーの発症が幼児期にも多いなら, より早期の治療介入も必要であろうが, 腸管の発達が未熟な時期での抗原投与の影響など明らかにすべき課題は多く, 少しずつ前進を図っていくしかない. そのほかにも有効性, 安全性の高いワクチン開発が期待されるが, 実際に臨床評価を受け, さらに小児まで適応を得るには, 少なくとも10年は必要である.

一方, プロバイオティクスについては, 例えば妊婦への投与でその児のアトピー性皮膚炎の軽減, 予防につながったという報告⁵⁾もあり, 安全性の意味からも期待されるが, やはり精度の高い臨床評価が必要である. 他方, 小児は特に感染罹患の頻度が高く, 喘息では上気道感染が発作の最大の危険因子であることはよく知られている. 鼻アレルギーにおける上気道感染の意義は, 必ずしも十分に解明されていない⁶⁾が, 口蓋扁桃を摘出した喘息あるいは鼻アレルギーを合併した

患児の追跡調査では, 1年以内に喘息患児では約80%, 鼻アレルギー患児でも40~50%に改善がみられ, 発熱改善約80%と相まって, 上気道感染の影響が喘息同様, 鼻アレルギーにも大きく認められることが示唆された⁷⁾. このような感染症への配慮も重要である.

おわりに

『鼻アレルギー診療ガイドライン』2005年版の「小児の鼻アレルギー」について概説した. 小児では鼻内所見と訴えが一致しないことが多く, また親の鼻症状への関心が低いことも少なくないため, 特に幼児の診断には注意が必要である. 詳細な問診に加えて, 鼻汁スメア, 鼻内所見の有用性が高い.

文 献

- 1) 鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会: 鼻アレルギー診療ガイドライン—通年性鼻炎と花粉症—2005年版(改訂第5版), pp. 62-65, ライフ・サイエンス, 東京, 2005
- 2) 國井直樹, 山本隆三朗, 服部百合恵ほか: 投稿中
- 3) 米倉修二, 大川 徹, 岡本美孝ほか: 投稿中
- 4) 河野陽一, 下条直樹, 鈴木修一ほか: 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. 平成16年度厚生労働省科学研究費補助金免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業報告書, pp. 19-21, 2004
- 5) Kalliomaki, M., Salminen, S., Arvilommi, H. et al.: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 357: 1076-1079, 2001
- 6) Okamoto, Y., Matsuzaki, T., Matsuoka, S. et al.: Influence of viral infection on the development of nasal hypersensitivity. *Clin. Exp. Allergy* 35: 679-684, 2005
- 7) 留守卓也, 堀口茂俊, 岡本美孝: 投稿中

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

リアルタイムモニター飛散数と現状の治療による QOL の関連性の評価と花粉症根治療法の開発 スギ花粉症患者に対する初期療法の有用性に関する研究 抗ヒスタミン薬と鼻噴霧用ステロイド薬による比較試験

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

スギ花粉症の患者に第2世代抗ヒスタミン薬あるいは鼻噴霧用ステロイド薬にて初期療法を施行し、鼻噴霧用ステロイド薬による初期療法が本格飛散初期の症状を有意に軽減する効果が確認された。花粉症治療に対する患者満足度を向上させるためには、抗炎症作用に優れた薬剤を早期から使用し、飛散ピーク時にはすみやかに併用療法に移行する治療法の確立が必須であり、今後更なるデータの蓄積を必要とする。

A 研究目的

スギ花粉症は国民の10~15%が罹患し国民病ともいわれている。平成17年10月に鼻アレルギー診療ガイドラインが改定され、花粉症の治療法の薬物の選択が、重症度別あるいは病型別に示された。そのなかで、初期療法に関する薬物も提示され、遊離抑制薬、第2世代抗ヒスタミン薬、抗ロイコトリエン薬が挙げられている。花粉症に対する初期療法の有用性については多くのデータがあるが、どの薬剤を選択するかについて比較したデータは限られている。今回、薬物治療として使用頻度が高い第2世代抗ヒスタミン薬と鼻噴霧用ステロイド薬を用い、それらによる初期療法の鼻症状と眼症状の症状発現遅延効果ならびに症状改善効果を比較検討した。

B 方法

対象患者は、前年度にスギ花粉症の既往をもつ20歳以上のスギ花粉症患者とし、来院日にまた症状がなく初期療法を希望するものとした。封筒法により、塩酸オロパタジン(60mg)を1日2回経口投与する群、プロピオン酸フルチカゾン点鼻液(各鼻腔に1噴霧(50 μ g))を1日2回投与する群にランダムに群分けを行った。飛散ピークが近づき症状の増悪がみられたと主知医が判断した時点で併用療法として、塩酸オロパタジン群にはプロピオン酸フルチカゾン点鼻液を、プロピオン酸フルチカゾン点鼻液群には塩酸オロパタジンを併用した。試験期間はスギ花粉飛散終了までとした。試験薬の有効性評価には鼻・眼症状を用いた。鼻症状としては、くしゃみ発作、鼻汁、鼻閉、眼症状(眼のかゆみ、流涙)、日常生活支障度を鼻アレルギー診療ガイドラインに準じて、患者日誌に毎日記載してもらった。投与前および投与2週ごとのスコアの経時推移を検討した。Total Symptom Score (TSS) はくしゃみ発作、鼻汁、鼻閉

の合計スコアとした。解析方法はMann-WhitneyのU検定を用いた。

C 結果

- 1) 本格飛散開始日における症状発現率は両群とも20%程度であり、いずれの初期療法においても差がなかった。併用療法の開始は、両群とも飛散ピーク時に集中していた。
- 2) 本格飛散開始後飛散ピーク時までの鼻症状は塩酸オロパタジン群(24例)では次第に右肩上がりとなっており症状の増悪が疑われた。一方、プロピオン酸フルチカゾン点鼻群(22例)では、症状の増悪が抑制されていた。眼症状(眼のかゆみ、流涙)は両群とも本格飛散の開始とともに症状の増悪傾向が同様に認められた。
- 3) 飛散ピーク時から両群とも全く同じ併用療法となっているが、本格飛散初期の症状スコアを反映したままで、その後の症状スコアは推移を示していた。単独治療でシーズンを終了した症例数は、塩酸オロパタジン群およびプロピオン酸フルチカゾン点鼻群それぞれ7例、5例であった。
- 4) 副作用は眠気6例と下痢1例のみで、重篤な副作用は見られなかった。

D 考察

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後からのいわゆる初期療法が推奨されている。ガイドラインではいくつかの薬剤が挙げられ、そのなかで、第2世代の抗ヒスタミン薬はinverse agonistとしての作用があり、ヒスタミン受容体をactive formからinactive formへとシフトさせること

により初期療法での理論的な裏付けがあるとされる。一方、鼻噴霧用ステロイド薬は強力な抗炎症作用があるゆえに中等症以上からの使用が推奨され初期療法としては推奨されていないが本格飛散期後の併用療法では必須の薬剤である。

今回、第2世代抗ヒスタミン薬あるいは鼻噴霧用ステロイド薬にて初期療法を行い、いずれがスムーズな併用療法へ移行できるかどうか検討した。結果は、鼻噴霧用ステロイド薬使用群が本格飛散初期の症状増悪を第2世代抗ヒスタミン薬より抑制しており、その後飛散ピーク後の併用療法でも症状の増悪が認められなかった。

花粉症は本格飛散が開始するとその後2週間くらいで飛散のピークが到来し症状も重症化することがわかっている。飛散ピーク時の症状をいかに軽症に抑えるかがQOL改善のポイントと思われる。飛散ピーク時には併用療法が必要になるがどの薬剤を最初に使用するかでピーク時の重症度に影響がある可能性がある。今回の結果は、抗炎症作用が強い鼻噴霧用ステロイド薬を早期に使用しその後併用療法に移行したほうが飛散ピーク時の症状を軽くする効果が強い印象である。今後症例を重ね慎重に検討する必要があると思われる。

E 結論

花粉症の初期療法から本格飛散期の併用療法へのスムーズな移行には、鼻噴霧用ステロイド薬を早期から使用しその後第2世代抗ヒスタミン薬との併用療法に移行するほうが症状の軽減には有利であると推察した。今後、厳格な比較試験、相加・相乗作用などの研究を進め、患者満足度の高い初期療法と併用療法のエビデンスを確立していく必要があると考えられた。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

1. 論文発表

増山敬祐：わかりやすい免疫疾患 第IV章 免疫と病態 皮膚・感覚器疾患 アレルギー性鼻副鼻腔炎. 日本医師会雑誌 134 (特別号) : 342-347, 2005.

増山敬祐：花粉症の治療 ガイドラインと評価. Mebio 22: 61-67, 2005.

増山敬祐：花粉症に対する鼻局所ステロイド薬の進歩とエビデンス. アレルギーの臨床 26: 117-123, 2006.

2. 学会発表

高橋吾郎、松崎全成、増山敬祐：リアルタイム花粉モニター (KH3000) を用いた花粉観測. 第23回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2005

宮田政則、上條 篤、松崎全成、松岡伴和、高橋吾郎、増山敬祐 他：アスピリン喘息患者に見られた嗅神経芽細胞腫の一症例. 第44回日本鼻科学会、2005

高橋吾郎、上條 篤、遠藤周一郎、松岡伴和、増山敬祐：視力障害を伴った鼻副鼻腔疾患の4症例. 第44回日本鼻科学会、2005

松岡伴和、堀口茂俊、岡本美孝、高橋吾郎、松崎全成、増山敬祐：当科における頭頸部扁平上皮癌に対する免疫治療の試み. 第23回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2005

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