

5 and 7. Similar cytokine production profiles were obtained in the anti-CD3 stimulation cultures (data not shown).

Th1/Th2-dependent Ab production in aging mice

Th2 cells play an important role in the stimulation of B cells to produce high levels of Ag-specific IgG1 and IgE in vivo, whereas the IgG2a isotype is a consequence of the generation of Th1 cells. Young and aging BALB/c mice were immunized with OVA-CFA, and the serum concentrations of total IgE, OVA-specific IgG1 and IgG2a were measured. As expected, the serum concentration of total IgE was significantly decreased in aging mice (Fig. 4, *left panel*). The serum concentration of IgG1 was significantly lower in aging mice (Fig. 4, *middle panel*), while Th1-dependent OVA-specific IgG2a levels were not decreased (Fig. 4, *right panel*). The production of Ag-specific IgE was not detected (data not shown). These results suggest that Th2-dependent Ab responses in vivo are decreased in aging mice preserving Th1 responses intact.

Signal transduction downstream of IL-4R in CD4⁺ T cells from aging mice

To assess the activation of the IL-4R signaling pathway, freshly prepared CD4⁺ T cells from young and aging mice were stimulated with IL-4, and then the tyrosine phosphorylation of STAT6 was examined. No significant differences in the magnitude or time course of phosphorylation of STAT6 were observed (Fig. 5A). Protein expression of STAT6 was comparable between young and old mice. Moreover, STAT6 phosphorylation induced by various doses of IL-4 was also comparable (Fig. 5B). Thus, the IL-4R signaling cascade appears to be intact in CD4⁺ T cells from aging mice.

Signal transduction through TCR in CD4⁺ T cells from aging mice

Next, we assessed the levels of signaling activation downstream of TCR. First, [Ca²⁺]_i mobilization in CD4⁺ T cells was assessed after TCR cross-linking, and a slightly higher percentages of responding cells and slightly higher magnitude of the response were observed (Fig. 5C). Next, naive CD4⁺ T cells from young and aging mice were stimulated with anti-TCR mAb, and the tyrosine phosphorylation of ERK1 and ERK2, reflecting MAPKK activation, was examined (Fig. 5D). Although the expression levels of ERK1 and ERK2 protein were comparable, the levels of phosphorylation of both ERK1 and ERK2 were reduced substantially in CD4⁺ T cells from aging mice. The background phosphorylation was also slightly reduced (see time 0). These results suggest that the activation of the Ras-ERK MAPK cascade is impaired in aging mouse CD4⁺ T cells.

Decreased GATA3 induction in CD4⁺ T cells differentiated under Th2 culture conditions

Because the levels of GATA3 and JunB expression are reported to be critical for Th2 cell differentiation (11), we assessed the protein and mRNA expression levels of GATA3 and JunB in developing Th2 cells. Naive CD4⁺ T cells from young and aging BALB/c mice were stimulated with anti-TCRβ mAb in the presence of IL-4 and anti-IL-12 mAb for 5 days, and the protein expression levels of GATA3, JunB, and tubulin-α (Fig. 6A), and the mRNA expression levels of GATA3 (Fig. 6B) were assessed. The levels of GATA3 protein were decreased substantially in aging mouse CD4⁺ T cells, while the levels of JunB were unchanged. Regarding the GATA3 mRNA levels, the decrease was significant but less dramatic in aging mouse T cells. These results suggest that GATA3 induction is significantly impaired in developing Th2 cells of aging mice.

In an attempt to rescue the inefficient Th2 cell differentiation in aging mouse T cells, we introduced GATA3 by retrovirus infection into aging mouse developing Th2 cells on day 2 of Th1/Th2 cell differentiation culture, and the generation of Th1/Th2 cells was assessed on day 5 (Fig. 6C). Although not complete, a substantial rescue of Th2 cell generation was observed. These results suggest that the inefficient Th2 cell differentiation in aging mouse T cells is due, at least in part, to the decreased expression of GATA3.

Chromatin remodeling of the Th2 cytokine gene locus in CD4⁺ T cells from aging mice

We reported that Th2 responses are highly dependent on the extent of activation of the Ras-ERK MAPK cascade (6, 48). The hyperacetylation of histones associated with the Th2 cytokine gene locus is dependent on the expression of GATA3 (43, 46). Activation of the ERK-MAPK cascade is required for GATA3-dependent histone H3 hyperacetylation of the Th2 cytokine gene locus (16). Consequently, we wished to examine the chromatin remodeling of the Th2 cytokine gene locus in CD4⁺ T cells from aging mice. The acetylation levels of histones associated with the Th2 cytokine gene locus (IL-4 promoter, IL-5 promoter, and IL-13 promoter) were reduced significantly in Th2 cells from aging mice (Fig. 7, A and B). The acetylation of the CNS1 region was reduced slightly in aging mouse Th2 cells. Similarly, the methylation levels of histones associated with the Th2 cytokine gene locus (IL-4 promoter, IL-5 promoter, and IL-13 promoter) and CNS1 region were significantly reduced in Th2 cells from aging mice (Fig. 7, A and C). These results indicate that histone H3 hyperacetylation and methylation of the Th2 cytokine gene locus are significantly decreased in developing Th2 cells of aging mice.

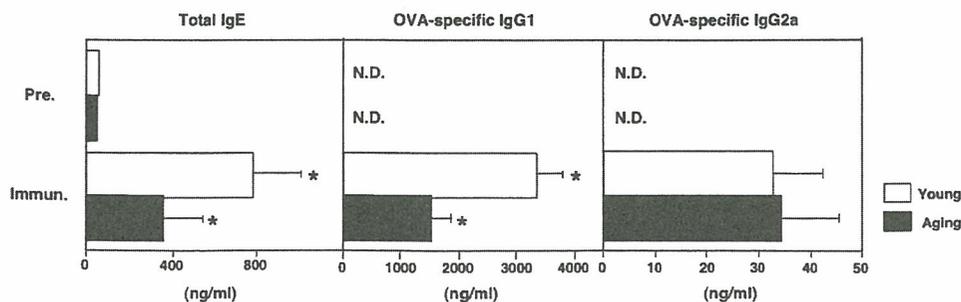


FIGURE 4. Th1/Th2-dependent immune responses in aging mice. Young (6 wk old) and aging (9 mo old) BALB/c mice (five mice per group) were immunized with OVA with CFA. Two weeks later, mean concentrations of total IgE and OVA-specific IgG1 and IgG2a Abs in the serum were determined. Data are shown with SEM. *, $p < 0.05$ by Student's t test. N.D., not detected.

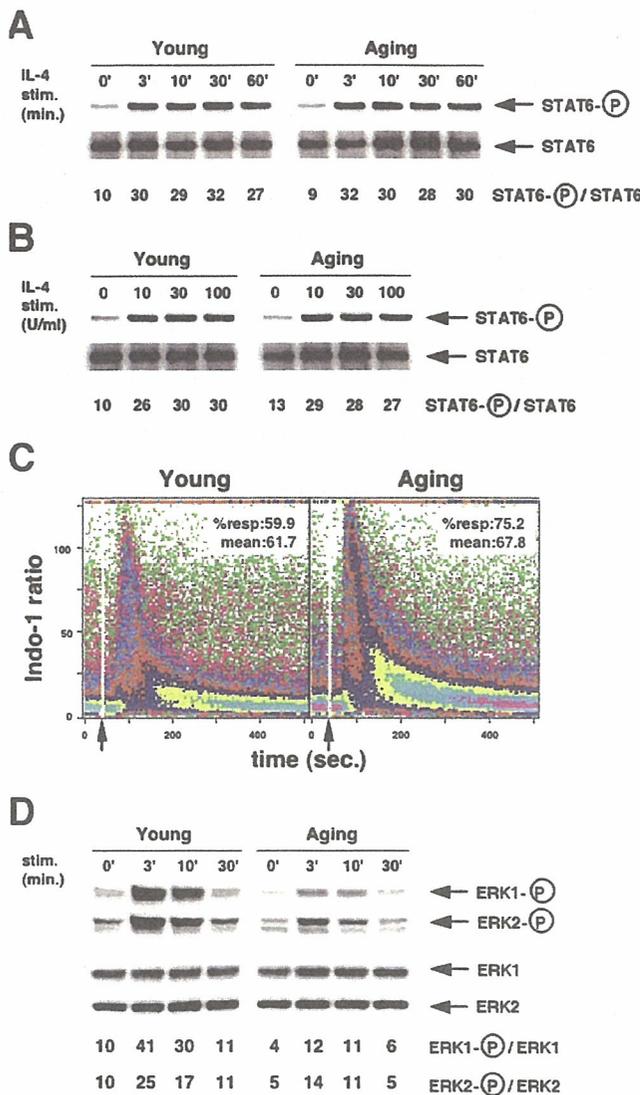


FIGURE 5. Signal transduction through TCR or IL-4R in CD4⁺ T cells from young and aging mice. *A* and *B*, Naive CD4⁺ T cells from young and aging mice were cultured for 2 days with immobilized anti-TCR mAb and IL-4, cultured without IL-4 for 8 h, and then the IL-4-induced phosphorylation on STAT6 (3–60 min with 100 U/ml IL-4 in *A*; 10 min with 10–100 U/ml IL-4 in *B*) was assessed by immunoprecipitation and immunoblotting with anti-phosphotyrosine mAb. The amount of STAT6 protein was also determined by reblotting the same membrane with specific mAbs. Arbitrary densitometric ratios (phospho-STAT6/STAT6) are shown under each band. Four independent experiments were done with similar results. *C*, Intracellular-free calcium ion levels after TCR-cross-linking (arrows) were measured by flow cytometric analysis of Indo-1-labeled naive CD4⁺ T cells from young and aging mice. The mean ratio of violet to blue fluorescence of Indo-1 is plotted vs time following stimulation. Shown are data obtained by gating electronically on CD4⁺ T cells. The percentages of responding cells and the mean response (ratio) of the responding cells are also shown. *D*, TCR-induced MAPKK activation in splenic CD4⁺ T cells from aging mice. The phosphorylation status of ERK1 and ERK2 in splenic CD4⁺ T cells was assessed 3–30 min after TCR cross-linking. After stimulation, the cells were lysed, and the lysates were subjected to immunoblotting with anti-phospho-ERK or anti-ERK Abs. Densitometric measurements of the phosphorylated bands (p44 for ERK1 and p42 for ERK2) are shown under each band in arbitrary units. Three independent experiments were done with similar results.

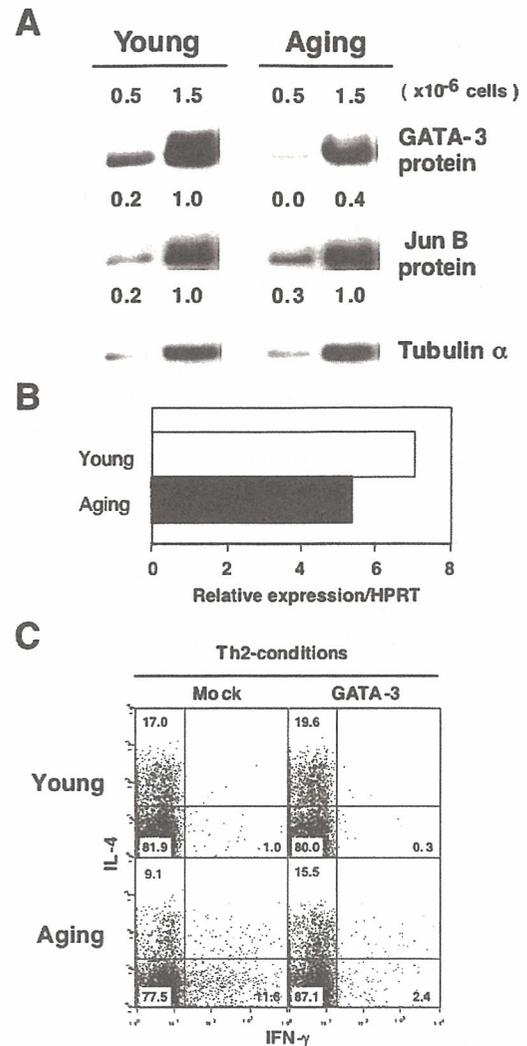
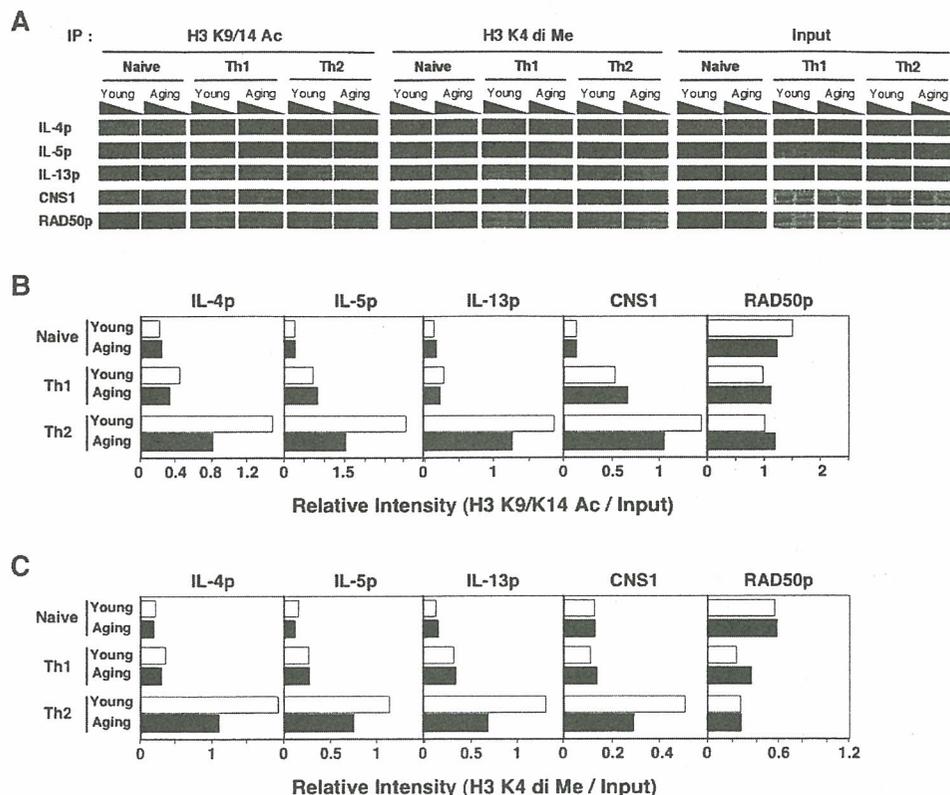


FIGURE 6. GATA3 expression and the effect of overexpression of GATA3 in developing Th2 cells from aging mice. *A*, GATA3 and JunB protein expression in developing Th2 cells. Naive CD4⁺ T cells from BALB/c mice were stimulated with anti-TCRβ mAb in the presence of IL-4 and anti-IL-12 mAb for 5 days, and total nuclear extracts were analyzed by immunoblotting with anti-GATA3 mAb, anti-JunB mAb, or anti-tubulin-α mAb. Three independent experiments were performed; representative results are shown. Arbitrary densitometric units normalized to tubulin-α are shown under each band. *B*, GATA3 mRNA expression in young and aging developing Th2 cells. Th2 cells prepared as in *A* were subjected to quantitative RT-PCR analysis. *C*, Naive CD4⁺ T cells from BALB/c mice were stimulated with anti-TCRβ mAb in the presence of IL-4 and anti-IL-12 mAb for 2 days and then infected with a mock or GATA3-containing retrovirus vector. Th1/Th2 cell differentiation was assessed on day 5.

Decreased OVA-induced eosinophilic infiltration in BAL fluid and airway inflammation in aging mice

Next, we examined the effect of aging on Th2-dependent immune responses *in vivo*. Young and aging BALB/c mice were immunized twice with OVA-alum, and 2 wk later, exposed to inhaled OVA as described in *Materials and Methods*. BAL fluid was harvested and examined for infiltrating leukocytes (Fig. 8, *A* and *B*). Eosinophils, lymphocytes, neutrophils, and macrophages were determined based on morphological criteria, and the absolute numbers and percentages of each cell type were determined. A substantial decrease in the absolute numbers (Fig. 8*A*) and percentages

FIGURE 7. Histone modification of the Th2-cytokine locus in developing Th2 cells from aging mice. *A*, Acetylation and methylation status of histones associated with the Th2 cytokine gene locus. Freshly prepared naive splenic CD4⁺ T cells were stimulated under Th1 or Th2 conditions for 5 days. The acetylation status and methylation status of histone H3 in nucleosomes associated with the indicated regions was assessed by ChIP assay. An anti-acetylated histone H3 (K9 and K14) Ab and an anti-histone H3 di-methyl K4 antiserum were used. *B*, The relative intensity of histone hyperacetylation (Ac-H3/input) in each group is shown in *A*. *C*, The relative intensity of histone dimethylation (diMe-H3/input) in each group is shown in *A*. Representative results of three independent experiments are shown.



(Fig. 8B) of eosinophils was observed in aging mice. The infiltration of macrophages was increased in aging mice, and the number of total infiltrating cells was decreased in aging mice. These results indicate that OVA-induced eosinophilic infiltration in the BAL fluid is decreased in aging mice.

Concurrently, histological changes in the lungs of young and aging mice were evaluated by HE staining (Fig. 8C). The absolute numbers and percentages of each cell type are shown (Fig. 8, D and E). The numbers of total infiltrating cells were indistinguishable between young and aging mice, although a slight decrease in the absolute number, and a slight, but significant, decrease in the percentage of eosinophils were observed. No apparent difference in the numbers of lymphocytes, neutrophils or macrophages was observed.

Discussion

In the present study, we used young adult (4–6 wk old) and aging (8–12 mo old) mice, to demonstrate that the levels of Th2 cell differentiation and Th2-dependent allergic airway inflammation are attenuated in aging mice. In addition, we found several molecular defects in aging mouse CD4⁺ T cells, i.e., limited activation of the ERK/MAPK cascade, decreased expression of GATA3 and impaired chromatin remodeling of the Th2 cytokine gene locus. Because 8- to 12-wk-old mice can be considered to be in the early stages of aging, the processes affected would be the most sensitive among various age-related alterations in T cells.

Impaired Th2 cell differentiation in aging mouse CD4⁺ T cell cultures was not restored by the addition of excess amounts of exogenous IL-4 (10 U/ml; Fig. 2, middle panel). In addition, our in vitro cultures contained sufficient amounts of exogenous IL-2 (30 U/ml). The production of all Th2 cytokines (IL-4, IL-5, and IL-13) was decreased in aging mouse CD4⁺ T cells (Fig. 3). Thus, the defect in Th2 cell differentiation appears to be due to intrinsic alterations and not simply a secondary consequence of the imbalance

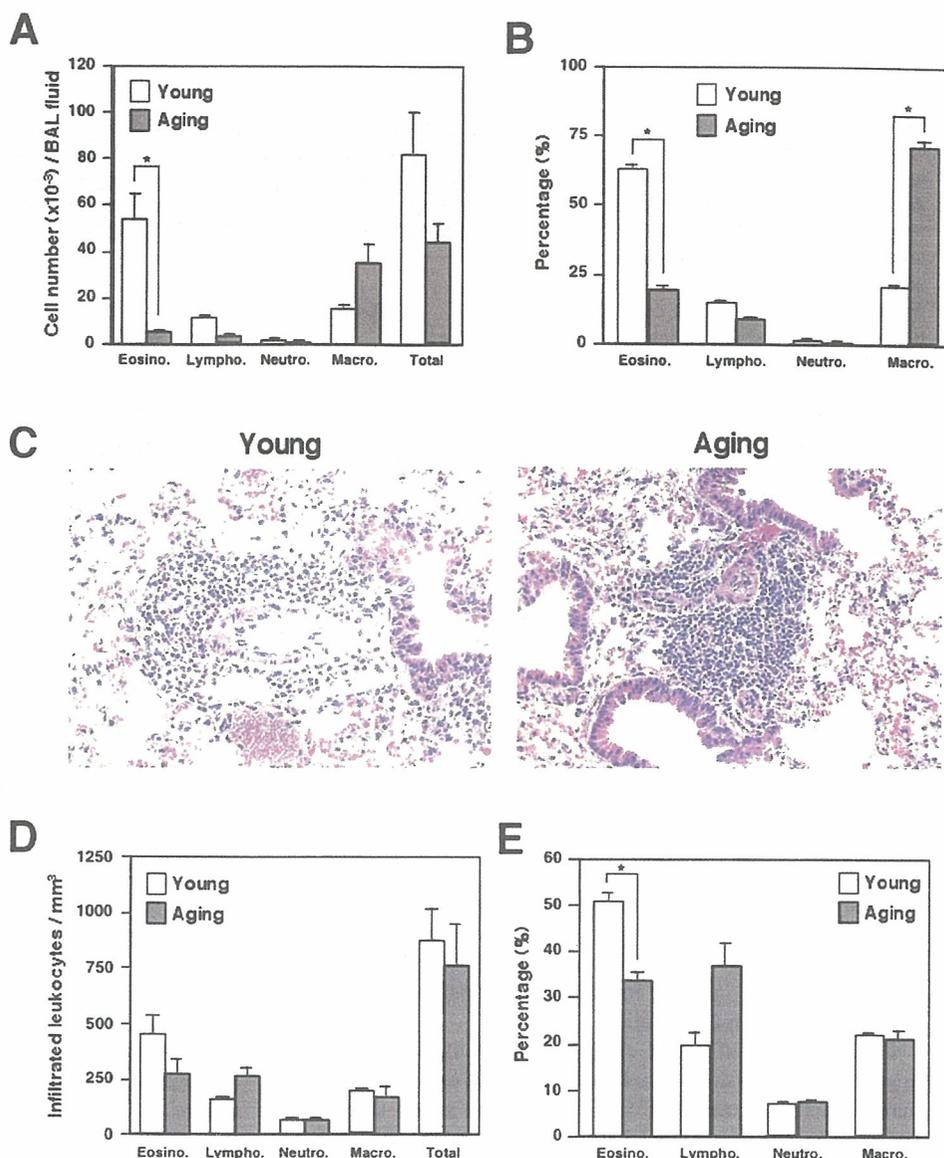
in the production of IL-2, IL-4, or IFN- γ by aging mouse CD4⁺ T cells in culture. Our observations are consistent with the results reported by H. al-Rayes et al. (52) that IL-4 production is diminished in aged human PBL.

In our previous reports, we showed that Th2 cell differentiation and Th2-dependent airway inflammation are highly dependent on the TCR-mediated activation of the Ras-ERK MAPK cascade (6, 48). In the present study, we detected significantly reduced activation of the Ras/MAPK cascade in aging mouse CD4⁺ T cells (Fig. 5D). Thus, the impaired Th2 cell differentiation in old mice appears to be due to the decreased TCR-mediated activation of the Ras/MAPK signaling pathway.

As for Th1 cell differentiation, we observed no detectable decrease in IL-12-induced Th1 cell generation in vitro (Fig. 2, right panels), suggesting that the efficiency in Th1 cell differentiation is less affected by aging. We detected significant numbers of IFN- γ producing cells in aging naive CD4⁺ T cell cultures when exogenous IL-4 was not included in the culture (Fig. 2, left panels). In addition, we detected increased production of IFN- γ by ELISA (Fig. 3). These results suggest that some shift from Th2 to Th1 cell differentiation occurs in aging mouse CD4⁺ T cell cultures. We previously reported a dramatic shift from Th2 to Th1 cell differentiation in dominant negative Ras Tg mice (6). Therefore, these results also support the notion that the impaired Th2 cell differentiation in aging mice is due to the decreased TCR-mediated activation of the Ras/MAPK signaling pathway.

The expression levels of the GATA3 protein are critical for chromatin remodeling (46) and the maintenance of remodeled chromatin at the Th2 cytokine gene locus (14). In addition, we have recently demonstrated that the activation of the Ras-ERK MAPK cascade controls the stability of the GATA3 protein through the inhibition of ubiquitin-dependent degradation (16). The results presented in this report suggest that GATA3-dependent

FIGURE 8. OVA-induced eosinophilic infiltration in BAL fluid and airway inflammation in old mice. The absolute cell number (A) and percentage (B) of eosinophils (Eosino.), lymphocytes (Lympho.), neutrophils (Neuro.), and macrophages (Macro.) in BAL fluid are shown with SDs. Three young (6 wk-old) and three aging (9 mo-old) BALB/c mice were used in this experiment. Data include absolute cell number, percentage of cells, total cell number per milliliter, and the volume of BAL fluid recovered. *, $p < 0.01$ and other p values > 0.05 by Student's t test. C, OVA immunization and inhalation of OVA aerosol were done as in A. The lungs were fixed and stained with H&E, $\times 200$. Sections shown are representative of 10 lung sections/mouse from three mice in each group. The cell number (D) and percentage (E) of infiltrated eosinophils (Eosino.), lymphocytes (Lympho.), neutrophils (Neuro.), and macrophages (Macro.) in the perivascular and peribroncholar regions are shown with SDs. Three young (6 wk old) and three aging (9 mo old) BALB/c mice were used in this experiment. *, $p < 0.01$ and other p values > 0.05 by Student's t test.



chromatin remodeling of the Th2 cytokine gene locus is significantly reduced in aging mouse CD4⁺ T cells (Fig. 7). The expression levels of JunB (Fig. 6A) and the activation of NF- κ B were comparable between young and aging mouse CD4⁺ T cells (A. Hasegawa and T. Nakayama, unpublished observation). From these results, we conclude that the impaired chromatin remodeling of the Th2 cytokine gene locus in aging mice is due, at least in part, to the decreased expression of the GATA3 protein in developing Th2 cells.

Although it remains unclear why the activation of the Ras-ERK MAPK cascade is affected selectively during aging, this pathway may determine the characters of various T cell responses. In anergic CD4 T cells impaired activation of the Ras-ERK MAPK cascade has been reported (53, 54).

How allergic inflammation, such as allergic asthma is modulated by aging has not been reported. We show in the present study that the severity of Th2-dependent allergic airway inflammation is decreased in aging mice (Fig. 7). This appears to be due to the decreased Th2 cell differentiation in aging mice. Although there is as yet no clear evidence in humans, the data would suggest that the first onset of allergic asthma should occur less frequently in aged human beings. The confirmation of this hypothesis must await a comprehensive investigation in humans.

In summary, this study provides the first evidence that a chromatin-remodeling event in T cells, i.e., chromatin remodeling of the Th2 cytokine gene locus in developing Th2 cells, is compromised during aging. Moreover, we demonstrate attenuated Th2-dependent allergic airway inflammation in aging mice, which may reflect the nature of allergic diseases in aged humans.

Acknowledgments

We thank Kaoru Sugaya for excellent technical assistance.

Disclosures

The authors have no financial conflict of interest.

References

- Mosmann, T. R., and R. L. Coffman. 1989. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 7: 145–173.
- Abbas, A. K., K. M. Murphy, and A. Sher. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 383: 787–793.
- Constant, S. L., and K. Bottomly. 1997. Induction of Th1 and Th2 CD4⁺ T cell responses: the alternative approaches. *Annu. Rev. Immunol.* 15: 297–322.
- O'Garra, A. 1998. Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. *Immunity* 8: 275–283.
- Yamashita, M., K. Hashimoto, M. Kimura, M. Kubo, T. Tada, and T. Nakayama. 1998. Requirement for p56^{lck} tyrosine kinase activation in Th subset differentiation. *Int. Immunol.* 10: 577–591.

6. Yamashita, M., M. Kimura, M. Kubo, C. Shimizu, T. Tada, R. M. Perlmutter, and T. Nakayama. 1999. T cell antigen receptor-mediated activation of the Ras/mitogen-activated protein kinase pathway controls interleukin 4 receptor function and type-2 helper T cell differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 1024–1029.
7. Yamashita, M., M. Katsumata, M. Iwashima, M. Kimura, C. Shimizu, T. Kamata, T. Shin, N. Seki, S. Suzuki, M. Taniguchi, and T. Nakayama. 2000. T cell receptor-induced calcineurin activation regulates T helper type 2 cell development by modifying the interleukin 4 receptor signaling complex. *J. Exp. Med.* 191: 1869–1879.
8. Grogan, J. L., and R. M. Locksley. 2002. T helper cell differentiation: on again, off again. *Curr. Opin. Immunol.* 14: 366–372.
9. Murphy, K. M., and S. L. Reiner. 2002. The lineage decisions of helper T cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2: 933–944.
10. Zhang, D. H., L. Cohn, P. Ray, K. Bottomly, and A. Ray. 1997. Transcription factor GATA-3 is differentially expressed in murine Th1 and Th2 cells and controls Th2-specific expression of the interleukin-5 gene. *J. Biol. Chem.* 272: 21597–21603.
11. Zheng, W., and R. A. Flavell. 1997. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell* 89: 587–596.
12. Ouyang, W., S. H. Ranganath, K. Weindel, D. Bhattacharya, T. L. Murphy, W. C. Sha, and K. M. Murphy. 1998. Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4-independent mechanism. *Immunity* 9: 745–755.
13. Lee, H. J., N. Takemoto, H. Kurata, Y. Kamogawa, S. Miyatake, A. O'Garra, and N. Arai. 2000. GATA-3 induces T helper cell type 2 (Th2) cytokine expression and chromatin remodeling in committed Th1 cells. *J. Exp. Med.* 192: 105–115.
14. Yamashita, M., M. Ukai-Tadenuma, T. Miyamoto, K. Sugaya, H. Hosokawa, A. Hasegawa, M. Kimura, M. Taniguchi, J. DeGregori, and T. Nakayama. 2004. 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.
15. Pai, S. Y., M. L. Truitt, and I. C. Ho. 2004. GATA-3 deficiency abrogates the development and maintenance of T helper type 2 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 1993–1998.
16. Yamashita, M., R. Shinnakasu, H. Asou, M. Kimura, A. Hasegawa, K. Hashimoto, N. Hatano, M. Ogata, and T. Nakayama. 2005. Ras-ERK MAPK cascade regulates GATA3 stability and Th2 differentiation through ubiquitin-proteasome pathway. *J. Biol. Chem.* 280: 29409–29419.
17. Miller, R. A. 1996. The aging immune system: primer and prospectus. *Science* 273: 70–74.
18. Globerson, A., and R. B. Effros. 2000. Ageing of lymphocytes and lymphocytes in the aged. *Immunol. Today* 21: 515–521.
19. Webster, R. G. 2000. Immunity to influenza in the elderly. *Vaccine* 18: 1686–1689.
20. Miller, R. A. 2000. Effect of aging on T lymphocyte activation. *Vaccine* 18: 1654–1660.
21. Chakravarti, B., and G. N. Abraham. 1999. Aging and T cell-mediated immunity. *Mech. Ageing Dev.* 108: 183–206.
22. Haynes, L., S. M. Eaton, E. M. Burns, T. D. Randall, and S. L. Swain. 2005. Newly generated CD4 T cells in aged animals do not exhibit age-related defects in response to antigen. *J. Exp. Med.* 201: 845–851.
23. Linton, P. J., L. Haynes, L. Tsui, X. Zhang, and S. Swain. 1997. From naive to effector: alterations with aging. *Immunol. Rev.* 160: 9–18.
24. Gillis, S., R. Kozak, M. Durante, and M. E. Weksler. 1981. Immunological studies of aging: decreased production of and response to T cell growth factor by lymphocytes from aged humans. *J. Clin. Invest.* 67: 937–942.
25. Engwerda, C. R., B. S. Handwerker, and B. S. Fox. 1996. An age-related decrease in rescue from T cell death following costimulation mediated by CD28. *Cell. Immunol.* 170: 141–148.
26. Ginaldi, L., M. De Martinis, A. D'Ostilio, L. Marini, M. F. Loreto, M. P. Corsi, and D. Quaglino. 2000. Cell proliferation and apoptosis in the immune system in the elderly. *Immunol. Res.* 21: 31–38.
27. Li, M., R. Walter, C. Torres, and F. Sierra. 2000. Impaired signal transduction in mitogen activated rat splenic lymphocytes during aging. *Mech. Ageing Dev.* 113: 85–99.
28. Damjanovich, S., R. Gaspar, Jr., L. Bene, A. Jenei, and L. Matyus. 2003. Signal transduction in T lymphocytes and aging. *Exp. Gerontol.* 38: 231–236.
29. Garcia, G. G., and R. A. Miller. 1998. Increased Zap-70 association with CD3 ζ in CD4 T cells from old mice. *Cell. Immunol.* 190: 91–100.
30. Miller, R. A. 1997. Age-related changes in T cell surface markers: a longitudinal analysis in genetically heterogeneous mice. *Mech. Ageing Dev.* 96: 181–196.
31. Cossarizza, A., C. Ortolani, R. Paganelli, D. Barbieri, D. Monti, P. Sansoni, U. Fagiolo, G. Castellani, F. Bersani, M. Londei, and C. Franceschi. 1996. CD45 isoforms expression on CD4⁺ and CD8⁺ T cells throughout life, from newborns to centenarians: implications for T cell memory. *Mech. Ageing Dev.* 86: 173–195.
32. Bandres, E., J. Merino, B. Vazquez, S. Inoges, C. Moreno, M. L. Subira, and A. Sanchez-Ibarrola. 2000. The increase of IFN- γ production through aging correlates with the expanded CD8⁺CD28⁻D57⁺ subpopulation. *Clin. Immunol.* 96: 230–235.
33. Sakata-Kaneko, S., Y. Wakatsuki, Y. Matsunaga, T. Usui, and T. Kita. 2000. Altered Th1/Th2 commitment in human CD4⁺ T cells with ageing. *Clin. Exp. Immunol.* 120: 267–273.
34. Poynter, M. E., and R. A. Daynes. 1999. Age-associated alterations in splenic iNOS regulation: influence of constitutively expressed IFN- γ and correction following supplementation with PPAR α activators or vitamin E. *Cell. Immunol.* 195: 127–136.
35. Karanflov, C. I., B. Liu, C. C. Fox, R. R. Lakshmanan, and R. L. Whisler. 1999. Age-related defects in Th1 and Th2 cytokine production by human T cells can be dissociated from altered frequencies of CD45RA⁺ and CD45RO⁺ T cell subsets. *Mech. Ageing Dev.* 109: 97–112.
36. Mbawuikwe, I. N., C. L. Acuna, K. C. Walz, R. L. Atmar, S. B. Greenberg, and R. B. Couch. 1997. Cytokines and impaired CD8⁺ CTL activity among elderly persons and the enhancing effect of IL-12. *Mech. Ageing Dev.* 94: 25–39.
37. Rink, L., I. Cakman, and H. Kirchner. 1998. Altered cytokine production in the elderly. *Mech. Ageing Dev.* 102: 199–209.
38. Ernst, D. N., M. V. Hobbs, B. E. Torbett, A. L. Glasebrook, M. A. Rehse, K. Bottomly, K. Hayakawa, R. R. Hardy, and W. O. Weigle. 1990. Differences in the expression profiles of CD45RB, Pgp-1, and 3G11 membrane antigens and in the patterns of lymphokine secretion by splenic CD4⁺ T cells from young and aged mice. *J. Immunol.* 145: 1295–1302.
39. Kubo, M., and B. Cinader. 1990. Polymorphism of age-related changes in interleukin (IL) production: differential changes of T helper subpopulations, synthesizing IL 2, IL 3 and IL 4. *Eur. J. Immunol.* 20: 1289–1296.
40. Murphy, K. M., A. B. Heimberger, and D. Y. Loh. 1990. Induction by antigen of intrathymic apoptosis of CD4⁺CD8⁺TCR^{low} thymocytes in vivo. *Science* 250: 1720–1723.
41. Nakayama, T., C. H. June, T. I. Munitz, M. Sheard, S. A. McCarthy, S. O. Sharrow, L. E. Samelson, and A. Singer. 1990. Inhibition of T cell receptor expression and function in immature CD4⁺CD8⁺ cells by CD4. *Science* 249: 1558–1561.
42. Kimura, M., Y. Koseki, M. Yamashita, N. Watanabe, C. Shimizu, T. Katsumoto, T. Kitamura, M. Taniguchi, H. Koseki, and T. Nakayama. 2001. Regulation of Th2 cell differentiation by mel-18, a mammalian polycomb group gene. *Immunity* 15: 275–287.
43. Inami, M., M. Yamashita, Y. Tenda, A. Hasegawa, M. Kimura, K. Hashimoto, N. Seki, M. Taniguchi, and T. Nakayama. 2004. CD28 costimulation controls histone hyperacetylation of the interleukin 5 gene locus in developing Th2 cells. *J. Biol. Chem.* 279: 23123–23133.
44. Kimura, M. Y., H. Hosokawa, M. Yamashita, A. Hasegawa, C. Iwamura, H. Watarai, M. Taniguchi, T. Takagi, S. Ishii, and T. Nakayama. 2005. Regulation of T helper type 2 cell differentiation by murine Schnurri-2. *J. Exp. Med.* 201: 397–408.
45. Omori, M., M. Yamashita, M. Inami, M. Ukai-Tadenuma, M. Kimura, Y. Nigo, H. Hosokawa, A. Hasegawa, M. Taniguchi, and T. Nakayama. 2003. CD8 T cell-specific down-regulation of histone hyperacetylation and gene activation of the IL-4 gene locus by ROG, repressor of GATA. *Immunity* 19: 281–294.
46. Yamashita, M., M. Ukai-Tadenuma, M. Kimura, M. Omori, M. Inami, M. Taniguchi, and T. Nakayama. 2002. Identification of a conserved GATA3 response element upstream proximal from the interleukin-13 gene locus. *J. Biol. Chem.* 277: 42399–42408.
47. Yamashita, M., R. Shinnakasu, Y. Nigo, M. Kimura, A. Hasegawa, M. Taniguchi, and T. Nakayama. 2004. Interleukin (IL)-4-independent maintenance of histone modification of the IL-4 gene loci in memory Th2 cells. *J. Biol. Chem.* 279: 39454–39464.
48. Shibata, Y., T. Kamata, M. Kimura, M. Yamashita, C. R. Wang, K. Murata, M. Miyazaki, M. Taniguchi, N. Watanabe, and T. Nakayama. 2002. Ras activation in T cells determines the development of antigen-induced airway hyperresponsiveness and eosinophilic inflammation. *J. Immunol.* 169: 2134–2140.
49. Hansen, G., G. Berry, R. H. DeKruyff, and D. T. Umetsu. 1999. Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. *J. Clin. Invest.* 103: 175–183.
50. Foster, P. S., S. P. Hogan, A. J. Ramsay, K. I. Matthaei, and I. G. Young. 1996. Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. *J. Exp. Med.* 183: 195–201.
51. Kamata, T., M. Yamashita, M. Kimura, K. Murata, M. Inami, C. Shimizu, K. Sugaya, C. R. Wang, M. Taniguchi, and T. Nakayama. 2003. src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase SHP-1 controls the development of allergic airway inflammation. *J. Clin. Invest.* 111: 109–119.
52. al-Rayes, H., W. Pachas, N. Mirza, D. J. Ahern, R. S. Geha, and D. Vercelli. 1992. IgE regulation and lymphokine patterns in aging humans. *J. Allergy Clin. Immunol.* 90: 630–636.
53. Li, W., C. D. Whaley, A. Mondino, and D. L. Mueller. 1996. Blocked signal transduction to the ERK and JNK protein kinases in anergic CD4⁺ T cells. *Science* 271: 1272–1276.
54. Fields, P. E., T. F. Gajewski, and F. W. Fitch. 1996. Blocked Ras activation in anergic CD4⁺ T cells. *Science* 271: 1276–1278.

原著

小児アレルギー性鼻炎の疫学調査の問題点

岡本美孝¹⁾, 米倉修二¹⁾, 清水恵也¹⁾, 外池百合恵¹⁾, 小澤仁²⁾,
河野陽一³⁾, 下条直樹³⁾

1) 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学

2) 小澤耳鼻咽喉科クリニック

3) 千葉大学大学院医学研究院小児病態学

小児アレルギー性鼻炎の実態を明らかにしていくことは、アレルギー性鼻炎の発症、病態、治療を検討する上で不可欠である。小児のアレルギー性鼻炎の診断にあたっては、1) 保護者、本人の症状の有無、その内容についての信頼性 2) 抗体検査の同意実施が容易ではない 3) 誘発テストが困難といった小児特有の問題があり、疫学調査となると診断はさらに容易ではなくなる。信頼性のある疫学調査のためには、少なくとも血清 IgE 抗体検査は不可欠であり、スギ花粉症では眼症状合併も症状判断に有用である。さらに長期の経過観察など高い精度が求められる調査では、IgE 抗体検査に加えて十分な問診に基づいた診断が必要である。その際、鼻内診察、鼻汁好酸球検査の意義は高いと考えられる。

キーワード：アレルギー性鼻炎，小児，疫学調査

はじめに

近年、小児アレルギー性鼻炎患者の増加が指摘されている^{1,2)}。特に従来成人での発症が中心と考えられていた花粉症の小児期での発症の増加が目立つとされる³⁻⁵⁾。しかし、アンケート調査に基づいた調査報告はみられるものの、小児アレルギー性鼻炎の診断法も加味した詳細な小児アレルギー性鼻炎の実態調査は行われていない。小児のアレルギー性鼻炎の診断にあたっては、1) 保護者、本人の症状の有無、その内容についての信頼性 2) 抗体検査の同意実施が容易ではない 3) 誘発テストが困難といった小児特有の問題があり、疫学調査となると診断はさらに容易ではない。一方、最近では個人情報保護に対する過剰反応も背景に学校関係者の同意を得ることが困難になっており、疫学調査自体の実施も難しくなっている。しかし、小児ア

レルギー性鼻炎の実態を明らかにしていくことは、アレルギー性鼻炎の発症、病態、治療を検討する上で不可欠である。今回、今後の小児アレルギー性鼻炎の疫学調査に向けて、その実施にあたっての問題点について検討を行ったので報告する。

I 対象と方法

1) 2005年6月に山梨県北部と南部にある4つの小学校で全校生徒を対象にアレルギー性鼻炎のアンケート調査と血液検査を保護者から文書で同意が得られた生徒に行った。用いたアンケートは表に示すが、アレルギー性鼻炎の症状の問診は International study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) のものに準じ、これに眼症状、持続期間などを付け加えたものを用いた。血液は総 IgE 値、CAP-RAST を用いてスギ、ヒノキ、ダニを含む抗原特異的 IgE

アンケート調査ならびに血清中抗スギIgE抗体から判断したスギ花粉症有病率

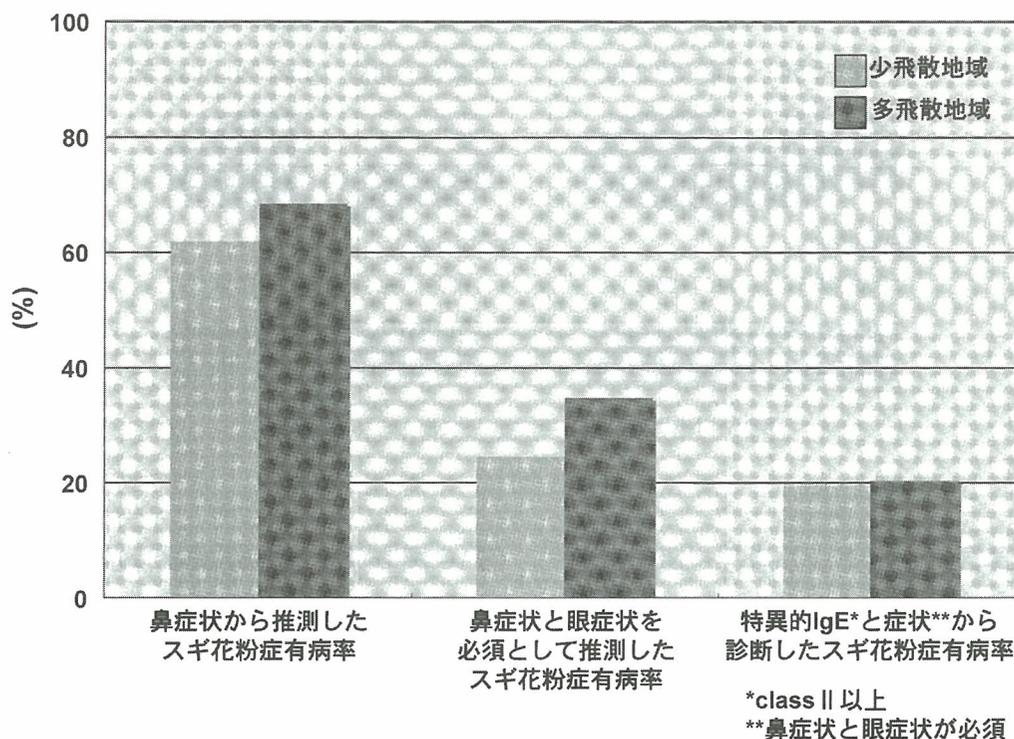


図1 アンケートならびに血清特異的 IgE 抗体価による花粉症の診断

値の測定に用いた。

2) 2004年秋より、小児喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーにて千葉大学医学部附属病院小児科に通院中の小児アレルギー患者の耳鼻咽喉科外来への定期受診、診察を開始しアレルギー性鼻炎を含む鼻症状の診断、治療、経過観察を行った。アレルギー性鼻炎の診断は、特異的抗体陽性で、保護者から明らかな鼻症状の訴えがある場合、保護者から鼻症状の訴えが無くともアレルギー性鼻炎様の鼻内所見と鼻汁スメアの細胞診で好酸球が陽性である場合には、保護者に詳細な鼻症状を確認して、認められればアレルギー性鼻炎と診断した。

II 結 果

1) アンケート調査は全校生徒485名中98%の保護者で同意が得られ、回収が出来た。保護者がスギ花粉症の時期に一致してくしゃみ、鼻汁、鼻閉があると回答した生徒の割合は60%

に達していたが、スギ花粉の飛散が多い南部、少ない北部とで差は見られなかった(図1)。一方、眼をこするなど眼のかゆみ症状の出現とこれらの鼻症状の出現の一致を条件とすると陽性率は30%程度となった。ただ、地域による差は認めなかった。保護者及び本人から採血の同意が得られたのは69%の生徒であったが採血の同意の得られなかった生徒とアンケート上で鼻症状の出現率は、差は認められなかった。採血からスギ花粉に対するIgE抗体感作陽性者(CAP-RAST 2以上)の割合は60%、ダニに対しては45%に達していたが、地域による違いは有意ではなかった。スギ花粉感作陽性で、かつスギ花粉飛散期に鼻症状陽性者は全体の30%、鼻症状及び眼症状共に陽性者は20%であった。

2) 小児アレルギー疾患患者69名を定期的に診察したが、このうち喘息患者は41名、平均年齢5.5歳、喘息合併のないアトピー性皮膚

疾患別アレルギー性鼻炎 (AR) 罹患率

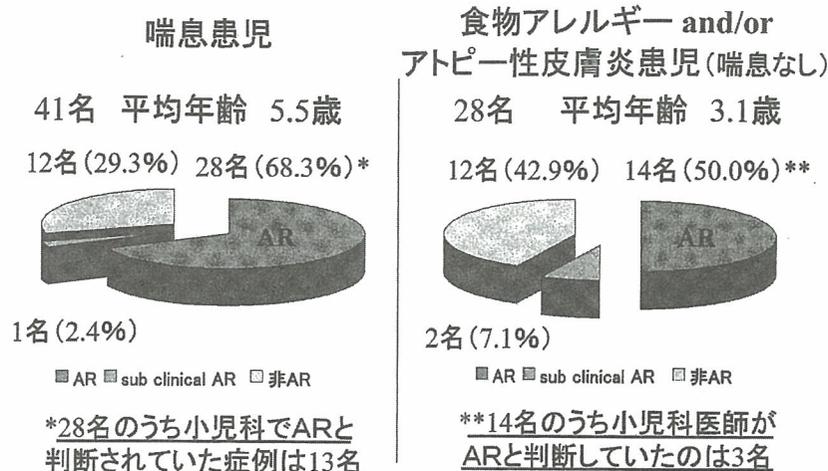


図2 小児アレルギー疾患とアレルギー性鼻炎

炎あるいは食物アレルギーの患児は28名、平均年齢3.1歳であった。このうち42名が通年性アレルギー性鼻炎の合併がみられ、全例ダニ特異抗体が陽性であったが、このうち28名は保護者から明らかな鼻症状の存在の訴えがあり、14例では鼻症状の訴えが無かったが鼻内所見及び鼻汁好酸球陽性から症状の詳細な問診を行い、症状の存在を確認した (図2)。尚、鼻内所見、鼻汁好酸球陽性でも3例については鼻症状の存在は問診でも確認されなかった。

III 考 察

今回、学校長、養護教員、学校医、地域教育委員会の御理解、御協力を得て小学校で全校生徒を対象にアレルギー性鼻炎の調査を行うことが出来た。いずれも小規模の小学校で全校生徒も485名と少ないが、山間部にあり転入生がほとんど認められず、その地域で育った小児であり、地域のスギ花粉飛散数の影響を調査するには適していると考え実施した。その内容の詳細については別途報告及び論文投稿中であるが、今回、疫学調査の問題点について検討を行った。アンケート調査ではISSACのものが用いられることが多く⁶⁾、全世界で約14万人の小児を対象とした調査結果は1998年のLancetに報告され⁷⁾、現在でも引用されることが多い。IS-

SAC調査票は喘息調査には広く認められ、確立されているが、喘息調査に基づいて作られた鼻炎の調査票については、検討はほとんど行われていない。この背景には耳鼻咽喉科が作成に関わっていないことがあると思われる。

ISAACのアレルギー性鼻炎の質問は、

- あなたのお子さんは今までカゼやインフルエンザにかかっているときに、くしゃみや鼻みず、鼻づまりの症状が起こったことがありますか。
- 最近12ヶ月のあいだで、あなたのお子さんはカゼやインフルエンザにかかっているときに、くしゃみや鼻みず、鼻づまりの症状が起こったことがありますか。

といった非常に簡単なものである。今回このような質問からアレルギー性鼻炎を判断すると、スギ花粉飛散時期には約60%、通年性は約45%と判断されてしまう。花粉症では眼のかゆみなど眼症状も必発であるので、眼症状も陽性者をみるとスギ花粉時期の有症率は30%となる。今回、このようなアンケート調査による鼻炎症状の存在が高く示された理由の1つには、調査の前に同意を求めるにあたり今回の調査の目的、意義の文書を各保護者に送り、その中に小児でのスギ花粉症を含めアレルギー性鼻炎が非常に増えていると指摘されていること、増加

している実態を明らかにする必要があること、を記載したが、そのことが却って非常に敏感ともいえる回答につながった可能性もある。やはり、2005年の千葉市の3歳児検診時の保護者を対象としたISAAC質問票での検討で3歳児のアレルギー性鼻炎の有症率は約30%という高い数字が示されている⁸⁾。このようなアンケート調査からのアレルギー性鼻炎の有症率の判断では、多くのfalse positiveが含まれていると考えられるが、この理由として前述の山梨での調査でもみられる保護者の意識の高さに関連して、アレルギー性鼻炎やその他鼻疾患が明らかではない正常者でもくしゃみ、鼻汁、鼻閉は鼻炎の重症度分類での軽症に相当する程度は高率にみられる、といった注目すべき奥田の指摘⁹⁾がある。さらに、スギ花粉症ではスギ花粉飛散時期に高頻度に見られる急性上気道炎との鑑別の難しさがある。我々がスギ花粉症患者を対象にシーズン中に定期的に鼻汁を採取し、鼻汁中のウイルス遺伝子をPCR法にて検討し、シーズン終了後にアレルギー日記からretrospectiveに検討した結果から、鼻汁中にウイルスが検出された時期に一致して鼻症状の増悪を認めていたが、患者は上気道炎ではなくスギ花粉症の増悪と判断していた。このことは逆にスギ花粉症患者でなくとも急性上気道炎とスギ花粉症との区別が容易ではないことを示唆している。

他方、小児では逆にfalse negativeも認めることが特徴で、特に喘息、アトピー性皮膚炎など他疾患を合併している場合、保護者の関心が喘息や皮膚症状には高くなり、鼻症状が軽視されてしまう傾向がある。今回、小児アレルギー疾患で通院中の患児の検討で患児の鼻閉、口呼吸、起床時のくしゃみ、鼻汁などといった症状も「前からある、ふつうのもの」と判断している保護者が多く、指摘されて「そういえば、よく口を開けている、くしゃみもしている」といった応答が少なくなかった。詳細な問診が不可欠であり、その際には鼻内所見、鼻汁スメア検査が非常に役立つ。今回、鼻内所見、鼻汁好酸

球検査が陽性でも、やはり全く鼻症状が確認できなかった小児も存在しており、今後の症状の推移などの観察が必要である。ただ、小児のアレルギー性鼻炎の発症を追う他のアレルギー疾患との関連を調査するなど厳密に診断が必要な調査にあたっては抗体検査のみならず、少なくとも鼻内所見、鼻汁細胞診、詳細な問診といったことから複合的に診断を行っていくべきであろう。確かに小児の鼻汁には好中球の存在が多いが、アレルギー性鼻炎の患児ではたとえ一度の検査では陰性でも、繰り返すことで好酸球の存在が確認出来る。そのような診断が出来ない場合には調査そのものの意義が薄くなってしまふことが危惧される。

ま と め

- 小児アレルギー性鼻炎の一般疫学調査において有症率の検討はアンケート調査のみでは不十分であり、少なくとも抗体検査が必要である。
- 眼症状の合併は花粉症調査の質問項目として有用である。
- 小児のアレルギー性鼻炎の発症の有無やその経過を追う調査では、診断には十分な配慮が必要である。抗体検査のみならず、鼻内所見、鼻汁好酸球検査の意義は高い。

文 献

- 1) Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CKW, Strachan DP, Weiland S, Williams H, ISAAC Phase Three Study Group. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood. *Lancet* 733-743, 2006
- 2) Von Mutius E, Pearce N, Beasley R. International patterns of tuberculosis and the prevalence of symptoms of asthma, rhinitis and eczema. *Thorax* 55, 449-453, 2000
- 3) 松崎一葉, 服部訓典. 疫学 pp1-7 西間三馨, 森川昭廣監修, 小児のアレルギー性鼻炎, 現代医療社, 東京, 2003
- 4) 岡本美孝. アレルギー性鼻炎の疫学. *医学のあゆみ* 216: 329-333, 2006
- 5) 鼻アレルギー診療ガイドライン作成委員会編: 鼻アレルギー診療ガイドライン改訂第5版, ライフサイエンス社, 東京, 2005
- 6) Asher MI, Keil U, Anderson HR. International

- study of asthma and allergies in childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J* 8, 483-491, 1995
- 7) The international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) steering committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic conjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 351: 1225-1232, 1998
- 8) 河野陽一. 小児気管支喘息とアレルギー性鼻炎の関連に冠する疫学的研究. 厚生労働省科学研究費補助「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」報告書. 2005

- 9) 奥田 稔, 大久保公裕, 後藤 譲. 鼻正常者の鼻症状. *アレルギー* 54: 551-554
- 10) 國井直樹, 留守卓也. 上気道感染とアレルギー性鼻炎. *医学のあゆみ*. 216, 401-405, 2006

別刷請求先:

〒260-8670 千葉市中央区亥鼻 1-8-1

千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学 岡本美孝

Some issues in epidemiological study of pediatric allergic rhinitis

Yoshitaka Okamoto¹⁾, Syuji Yonekura¹⁾, Naoki Kunii¹⁾, Heizaburo Yamamoto¹⁾, Noya Shimizu¹⁾, Yurie Tonoike¹⁾, Hitoshi Ozawa²⁾, Naoki Shimojo³⁾, Yuichi Kohno³⁾

- 1) *Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Chiba University*
2) *Ozawa ENT Clinic*
3) *Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Chiba University*

False positive results were frequently observed in the responses to a questionnaire administered to parents about allergic rhinitis of their elementary school children. Examination of the antigen specific IgE was indispensable to improve the specificity of the study. In addition, nasal inspection and nasal cytology were very helpful in the accurate diagnosis of pediatric allergic rhinitis.

Key words: pediatric allergic rhinitis, diagnosis, epidemiological study

アレルギー性鼻炎の 治療ストラテジー

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

岡本美孝 (おかもと よしたか)

【要旨】

現在のアレルギー性鼻炎の特徴として、スギ花粉に対する感作率、発症率の増加が、小児から中・高齢者の広い年齢層でみられ、特に若年者での自然改善は少ない。早期に実現の可能性が高い治療方針として、副作用も含めた患者負担の少ない抗原特異的免疫療法をベースに、重症度・病型に応じた薬物治療をうまく組み合わせた方法が期待される。長期的には、予知・予防も含めた根本的対応の実現に向けた努力が必要である。

アレルギー性鼻炎の現状

アレルギー性鼻炎はダニを主な原因抗原とする通年性アレルギー性鼻炎と、花粉を主な原因抗原とする季節性アレルギー性鼻炎(花粉症)に大別される。わが国におけるアレルギー性鼻炎の特徴は、

何とんでもスギ花粉症の存在である。スギの植林面積は国土の実に10%以上を占めており、スギ花粉は数十kmから100km以上の距離を飛散する。東京や大阪といった大都市に大量の花粉が飛散して多数の患者を生み出している現象は他国に類をみない。しかも、関

東以西ではスギ花粉飛散に続いてヒノキ花粉飛散がみられるが、スギとヒノキ花粉は共通抗原を有していることから、スギ花粉症患者の7割はヒノキ花粉症も発症している。したがって、多くのスギ花粉症患者は約12週間にわたり花粉曝露に苦しむことになる。

カモガヤ、ブタクサなどの花粉飛散距離は数十メートルで、飛散期間も約4週間程度である。こういった草本による花粉症が中心となつている欧米とはその状況は大きく異なる。シラカバ花粉のような樹木花粉による花粉症は一部ヨーロッパでもみられるが、その花粉飛散量はまったく異なる^{1) 2)}。

◆キーワード

アレルギー性鼻炎
長期経過
薬物治療
抗原回避
抗原特異的免疫治療
手術治療

従来、ダニによる感作、鼻炎の発症は小児期に多く、一方、花粉症の発症は20〜30歳代の成人に多いとされていたが、最近では小児での花粉症患者の増加が目立つ。昨年(2005年)は大量のスギやヒノキ花粉飛散がみられたが、その後6月に山梨県農村部の4小学校で行ったアレルギー性鼻炎の検診では、約60%にスギ花粉に対する感作がみられ、ダニに対する感作率(約45%)を上回っていた(図1)。感作者のうち発症している割合(発症率)も、スギ花粉症では40%を超えていた³⁾。

他方、中高年者についてみると、千葉県農村部で毎年実施している

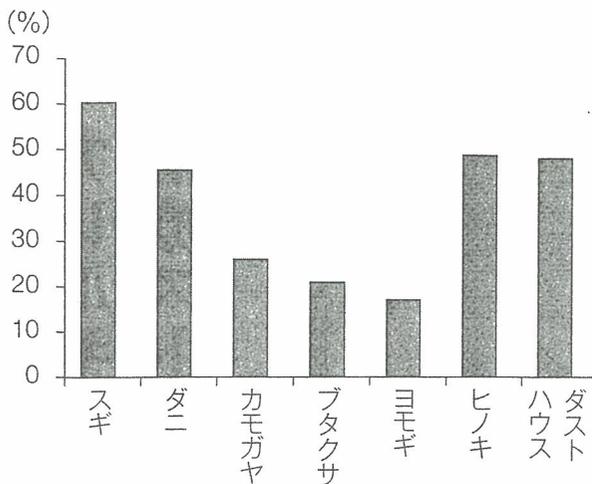


図1 小学生の各種アレルギーに対する感作率 (2005年6月の調査から)

アレルギー性鼻炎の検診で、スギ花粉に対する感作率は、やはり増加がみられる。また中・高年のスギ花粉感作陽性者を10年間にわたり追跡しても、全体の抗体価、発症率に明らかな低下はなく、10年前の同世代と比べて同一視ができてなくなっているのが現状である⁴⁾。

アレルギー性鼻炎患者の長期経過と予後

千葉大学耳鼻咽喉科アレルギー外来で1970～1995年の間に検査・治療を受けた小児アレルギー性鼻炎患者1557名のうち

ち、連絡をとることが可能であった438名に再受診を依頼し、このうち216名が昨年度当科外来を受診した。

このうち60名が当科で検査・治療を受けた当時16歳以下の小児であったが、当時のカルテと比較して症状が改善していたのは減感作治療を受けた小児を除くと25%程度であり、かつ軽度改善が中心で、消失、著明改善は認められなかった。一方、成人は小児に比較して改善率はやや高く、スギ花粉症、通年性アレルギー性鼻炎いずれも40%程度にみられた(平均経過はそれぞれ22年、15年)³⁾。

このように、小児アレルギー性鼻炎、特に小児のスギ花粉症患者の増加が認められること、小児期に発症したアレルギー性鼻炎は多くが改善のな

いまま成人へ移行してしまっていること、中・高年においてもスギ花粉に対する感作や発症の減少は容易に認められていないのがわが国の現状であり、スギ花粉飛散は増加

があっても減少傾向に転ずることには、今後数十年は期待できない。そしてヒノキ花粉飛散の増加も新たな問題点として指摘されている。

さらにone airway, one diseaseとしてアレルギー性鼻炎と喘息の関連が注目されている⁵⁾。両者の合併率が高く、合併している場合の症状に関連が深いというだけでなく、合併していない場合でもアレルギー性鼻炎の存在が将来の喘息発症の危険因子であること、アレルギー性鼻炎の治療が喘息発症の抑制につながる可能性があることが報告され、アレルギー性鼻炎の治療の重要性が指摘されている。

アレルギー性鼻炎の治療

『鼻アレルギー診療ガイドライン』は昨年10月に改訂第5版¹⁾が発行されたが、治療の中心として抗原回避、薬物治療、抗原特異的免疫療法、手術治療が挙げられ、患者と良好な信頼関係を築きながら治療することの重要性が記載されている(表1)。

(1) 抗原回避

I型アレルギー疾患であり、抗原と接触しなければ決して症状は

出現しないことから、抗原回避の指導は基本的治療である。ダニ抗原の曝露を抑えるための寝具の使用が喘息、アトピー性皮膚炎の症状改善、発症予防につながると指摘されている⁶⁾。改善を認めないとした報告⁷⁾もあるが、抗原回避の指導、環境整備の必要性を否定するものではない。

花粉については詳細な花粉飛散情報や飛散予報は患者のセルフケア向上に役立つ。近年、花粉の自動測定装置の発達もあり、環境省は「はな子さん」というサイトで関東・中・四国の花粉飛散情報を公開しているが、一方、民間会社も独自に、より詳細な情報、さらには詳細な飛散予報も提供している(千葉大学医学部附属病院耳鼻咽喉科ホームページでも閲覧可<http://ori-web2.m.chiba-u.jp/>)(図2)。

自動花粉測定器の精度向上など課題も少なくないが、今後大きな期待が持てる⁸⁾。

(2) 薬物治療

昨年の改訂ガイドラインでは、アレルギー性鼻炎に使用される種々のカテゴリーの薬物はすべて「アレルギー性鼻炎治療薬」という

表1 通年性アレルギー性鼻炎治療指針

重症度	軽 症	中等症		重 症	
病 型		くしゃみ・鼻漏型	鼻閉型	くしゃみ・鼻漏型	鼻閉型
治 療	①第2世代 抗ヒスタミン薬 ②遊離抑制薬	①第2世代 抗ヒスタミン薬 ②遊離抑制薬 ③鼻噴霧用 ステロイド薬	①LTs 拮抗薬 ②TXA2 拮抗薬 ③鼻噴霧用 ステロイド薬	鼻噴霧用 ステロイド薬 + 第2世代 抗ヒスタミン薬	鼻噴霧用 ステロイド薬 + LTs 拮抗薬または TXA2 拮抗薬
	①, ②いずれか 一つ	①, ②, ③のいずれか一つ 必要に応じて①または②に③を併用する			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
		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 of 安定を確かめて、ステップダウンしていく。

(文献¹⁾より)

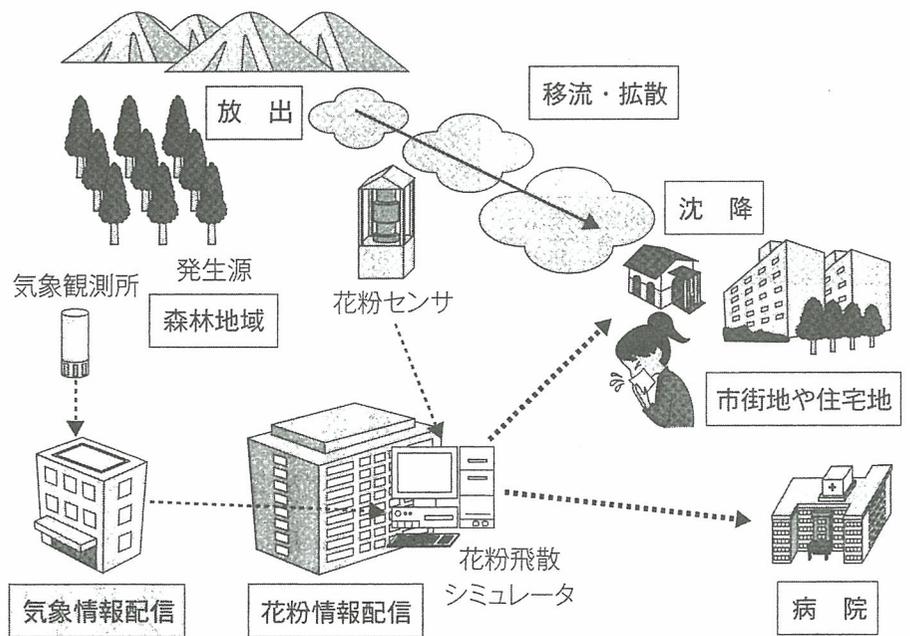


図2 花粉飛散情報と予報

(文献⁸⁾より)

名前でもまとめられた。それぞれ特徴があり、実際の使用にはこれらの特徴を利用することが重要である。患者は重症度、病型(くしゃみ・鼻漏型、鼻閉/充全型)に分けられ、それぞれに対して治療指針が示されている。特に花粉症で

は抗原曝露の量も一時期に集中して多くみられ重症例も多いことから、鼻噴霧用ステロイド薬を中心に併用療法が進められている(表2)。症状の改善をみながらのステップダウンが推奨されている。われわれのオープン試験でも鼻噴霧用ステロイド薬と抗ヒスタミン薬内服との併用は病型、重症度によらず早期に有効性が認められた⁹⁾。しかし、単剤使用と比較を行っているわけでもなく、欧米でも併用療法のランダム化試験による評価検討は少なく、特にわが国特有のスギ花粉症に対する併用療法の意義についての検証が必要であろう。

(3) 抗原特異的免疫療法
(減感作療法)

100年の歴史を持ち、欧米でのいくつもの二重盲検試験によりその有効性は明らかにされている。治療終了後もその効果は数年間は続くことも示されている。前述した千葉大学耳鼻咽喉科アレルギー外来で治療を受けた患者の長期経過調査で減感作療法を2年以上受けた患者についてみると、スギ花粉症(平

は抗原曝露の量も一時期に集中して多くみられ重症例も多いことから、鼻噴霧用ステロイド薬を中心に併用療法が進められている(表2)。症状の改善をみながらのステップダウンが推奨されている。われわれのオープン試験でも鼻噴霧用ステロイド薬と抗ヒスタミン薬内服との併用は病型、重症度によらず早期に有効性が認められた⁹⁾。しかし、単剤使用と比較を行っているわけでもなく、欧米でも併用療法のランダム化試験による評価検討は少なく、特にわが国特有のスギ花粉症に対する併用療法の意義についての検証が必要であろう。

表2 花粉症治療指針

重症度	初期療法	軽症	中等症		重症・最重症	
病型			くしゃみ・鼻漏型	鼻閉型または鼻閉を主とする完全型	くしゃみ・鼻漏型	鼻閉型または鼻閉を主とする完全型
治療	①遊離抑制薬 ②第2世代抗ヒスタミン薬 ③LTs拮抗薬 ①, ②, ③のいずれか一つ	①第2世代抗ヒスタミン薬 ②鼻噴霧用ステロイド薬 ③点眼用抗ヒスタミン薬または遊離抑制薬 ①, ③で治療を開始し, 必要に応じて②を追加	第2世代抗ヒスタミン薬 + 鼻噴霧用ステロイド薬	LTs拮抗薬 + 鼻噴霧用ステロイド薬 + 第2世代抗ヒスタミン薬	第2世代抗ヒスタミン薬 + 鼻噴霧用ステロイド薬	鼻噴霧用ステロイド薬 + LTs拮抗薬 + 第2世代抗ヒスタミン薬 必要に応じて点鼻用血管収縮薬を治療開始時の7~10日間に限って用いる 鼻閉が特に強い症例では経口ステロイド薬4~7日間で治療開始することもある
		点眼用抗ヒスタミン薬または遊離抑制薬			点眼用抗ヒスタミン薬, 遊離抑制薬またはステロイド薬	
						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			

表3 アレルギー性鼻炎の治療ストラテジー

- ・小児での発症増加：成人へ改善なく移行
- ・one airway, one disease：喘息との関連

現状～短期目標 (< 4年)

ベース：抗原回避と抗原特異的免疫療法
ただし、副作用、患者負担の少ない治療の開発(舌下減感作療法?)

↓
これに薬物治療を組み合わせる
重症度・病型に応じた併用
(鼻アレルギー診療ガイドライン参照)

(改善のない場合には手術治療)

長期目標 (10年<)

予知, 予防の研究と新規根本治療開発
→ 臨床トライアルの実施と評価

(文献¹⁾より)

均21年経過)で75%、ハウスダスト通年性アレルギー性鼻炎(平均15年経過)で81%、小児患者でも70%前後に改善がみられていた。症状の消失、著明改善は20%程度と高いとはいえないが、症状改善、その長期持続効果は明らかである³⁾。

(4)手術治療

根本治療とは考えられないが、保存的治療で改善がみられない時には、漫然と続けることなく手術治療も検討する。鼻中隔彎曲症など構造異常を認める場合は薬物効果も期待されないが、手術治療の意義は高い。外来でも実施可能なレーザー手術はやはり根本治療ではなく、再発も少なからず認められる。有効性は噴霧用ステロイド薬の継続使用と同程度といった報告もある。下鼻神経切断術、下鼻甲介粘膜下切除術など有効性も報告されているが、長期経過での検討、評価が必要である。

アレルギー性鼻炎の発症予知と予防

両親、あるいは兄弟のアレルギー

一性鼻炎の存在は最も大きな予知マーカーである。臍帯血のIgE値とその後の児のアトピー性疾患の発症との関連について多くの検討がなされているが、カットオフ値の設定や感度が低いといった問題から十分なコンセンサスは得られていない¹⁰⁾。臍帯血中のナイーブT細胞、あるいは樹状細胞等を利用した発症予知についての検討が行われており、その結果が期待される。

昨年、秋田県で行われた学童のアレルギー性鼻炎の調査では、スギ花粉飛散が極端に少ない大潟村の学童のスギ花粉感作率は27%程度と、スギ花粉飛散の多い内陸部の湯沢地区とダニ感作率に差は認めないものの、スギ花粉感作については約半分程度であった³⁾。抗原曝露を十分に少なくすれば、感作、発症の予防につながると思われる。しかし、今後もスギ、ヒノキ花粉飛散の増加が見込まれており予防は容易ではない。

とした抗ヒスタミン薬投与の検討で報告されている¹²⁾。抗原特異的免疫療法は使用した抗原のみでなく、他の抗原による発症の予防効果、他のアレルギー疾患の発症予防効果も示されている¹³⁾¹⁴⁾。しかし、前述した長期経過後の再受診者の調査では、他の抗原に対する発症、喘息発症抑制について有意差は認められなかった。より低年齢児での感作初期からの投与、治療も考慮する必要がある。

今後の展開

舌下減感作療法…抗原特異的免疫療法の有用性は前述の通りであるが、他方で現在の皮下注射による治療法では50回以上の頻回な通院が必要なこと、稀ではあるがアナフィラキシーといった重篤な副作用がみられることから患者負担が非常に大きい。そこで、抗原エキスを、粘膜を介して投与する方法が特に欧米で注目されている。中でも舌下減感作療法は、仏、伊など、中・南欧州では比較的広く行われており、米国でもFDAが臨床試験を認可している¹⁵⁾¹⁶⁾。ただ、わが国特有のスギ花粉エキス、ハ

ウスダストエキスをを用いた舌下減感作療法が有効かについては未だ明らかではなく、現在臨床試験が進んでいる。有効性・安全性が十分に確認されれば今後幼小児における感作、発症予防といった目的での使用の可能性も期待される。

アレルギー性鼻炎の
治療戦略(表3)

アレルギー性鼻炎は典型的なI型アレルギー疾患であり、IgE産生抑制、T_H2細胞の制御に向けて数々の基礎研究が進んでいる。ただし、これら新規治療が、たとえ実際に臨床応用が可能としても、市場への導入には10年以上の歳月が必要であろう。しかし、目の前で増加している患者に対し現在の治療法を利用して現実的な対応を図ることは重要であり、十分可能である。また、長い歴史を持つ抗原特異的免疫療法(減感作療法)の有効性も認められている。

現在、患者負担の少ない舌下減感作療法の臨床試験が進んでいる。減感作療法は必ずしも高い根治性は期待できないにしても、基本治療として薬物治療を組み合わせる

ことで高いQOLの改善が図れる。さらに、花粉症では詳細な花粉飛散情報・予報を利用して花粉曝露の回避、セルフケアの向上の併用が可能になると期待される。

□□□文 献□□□

1) 馬場廣太郎, 他: 鼻アレルギー診療ガイドライン2005年版, ライト・サイエンス社, 東京, 2005. 2) Burr ML, et al: Clin Exp Allergy 33: 1675, 2003. 3) 岡本美幸, 他: 厚生労働科学研究費補助「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」報告書, 2006. 4) 岡本美幸, 他: 治療88: 216, 2006. 5) Bousquet J, et al: J Allergy Clin Immunol 108: 5147, 2001. 6) Halmerbauer G, et al: Pediatr Allergy Immunol 14: 10, 2003. 7) Woodcock A, et al: N Engl J Med 349: 225, 2003. 8) 古保謙明: 医学のあゆみ216: 435, 2006. 9) 大久保公裕: アレルギー・免疫12: 96, 2005. 10) Allam JP, et al: Allergy 60: 743, 2005. 11) Halcken S: Paediatr Respir Rev 4: 128, 2003. 12) Warner JO, et al: J Allergy Clin Immunol 108: 929, 2001. 13) Purrello-D'ambrosio F, et al: Clin Exp Allergy 31: 1295, 2001. 14) Möller C, et al: J Allergy Clin Immunol 109: 251, 2002. 15) 岡本美幸: アレルギーの臨床26: 207, 2006. 16) Wilson DR, et al: Allergy 60: 4, 2005.

小児アレルギー性鼻炎治療の今後の展望

岡本美孝*

Yoshitaka OKAMOTO

● Key Words ● 小児, アレルギー性鼻炎, アレルギーマーチ ●

はじめに—増加する小児アレルギー性鼻炎—

アレルギー性鼻炎患者の増加が指摘されているが、特に小児では従来より発症が多い通年性アレルギー性鼻炎に加えて、成人での発症が中心であったスギ花粉症の増加も問題となっている。最近の小児アレルギー性鼻炎の正確な実態は必ずしも明らかではなかったが、当科で昨年6月に山梨県農村部の4小学校生徒、千葉県農村部の1小学校4年生、1中学校2、3年生を対象としたアンケートと血中特異的IgE抗体検査では、スギ花粉に対する感作率は60%近くに達し、ダニに対する感作率も増加していた(50%)。また発症率もそれぞれ37%、17%であった。

千葉県の同一小・中学校での同学年の生徒の5年前、10年前の結果と比較すると、特にスギ花粉に対して明らかに感作率、有症率に増加がみられた^{1,2)}。後述するように多くの小児アレルギー性鼻炎患者では症状に自然改善、寛解が認められず成人へと移行している。小児期に発症した患児は発症後長期にわたり症状に苦しむことになる。小児アレルギー性鼻炎に対しては、単に対症療法により症状の一時的なコントロールをはかるのみではなく、成人への移行の阻止を目指すことが必要である。

以下、本稿では、小児アレルギー性鼻炎の長期経過、他の小児アレルギー疾患との関連についてこれまでの検討結果を紹介し、これらの点を踏まえて今後の治療も含めた展望を述べる。

I. 長期経過の検討

—多くは改善せずに成人へ移行する—

1970～1995年に千葉大学耳鼻咽喉科アレルギー外来を受診し、検査、治療を受けたアレルギー性鼻炎患児のうち連絡がとれた487名に当科への再受診を依頼したところ、187名が再受診に応じ、そのうち60名が当時16歳以下の小児であった。当時のカルテと比較しながら詳しい問診、診察、皮内テスト、血清中の特異的IgE抗体価の測定を行った。

小児アレルギー性鼻炎患者で10～30年経過した患者のうち、多くは現在も小児期と比較して改善しておらず、特にスギ花粉症では改善率は20%であり、かつその全例が軽度改善で中等症以上改善は認めなかった。ただ、減感作療法を2年以上施行した小児では症状完全消失例は多くはないが、全体の70%以上に改善がみられた³⁾。皮内テスト、血清IgE値については治療法に関わらずほとんどの患者で陰性化はみられない。

II. 他の小児アレルギー疾患との関連

—アレルギーマーチの見直しが必要—

千葉大学小児科に喘息、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーにて通院中の患児の耳鼻咽喉科受診を定期的に行い、アレルギー性鼻炎の改善、発症との関連を検討している。これまでの検討では、喘息患児では41名(平均5.5歳)中28名(68%)にアレルギー性鼻炎が認められ、喘息合併のないアトピー性皮膚炎、食物アレルギーの患児28名(平均3歳)では50%にアレルギー性鼻炎の合併がみられた(図1)^{3,4)}。ただ、保護者、小児科医が

* 千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学
〔〒260-8677 千葉市中央区亥鼻1-8-1〕

は、他の小児アレルギー疾患との発症や増悪に及ぼす相互関連を明らかにし、小児アレルギーに対して総合的に対応していく必要がある。

III. 治療—早期介入の必要性—

アレルギー疾患への対応として早期介入の重要性が指摘されている⁶⁾が、アレルギー性鼻炎の根本的な克服には特に小児期の感作、発症、重症化の阻止に向けた取り組みが必要である。すなわち primary intervention (素因を持つ小児の感作の予防), secondary intervention (感作された小児の疾患発症の予防), early intervention (発症した患児の重症化の阻止) を考慮しなければならない (表)。

1) 薬物治療

アトピー性皮膚炎患児への抗ヒスタミン薬の継続が喘息発症を阻止するといった報告があるが、アレルギー性鼻炎に関する検討はなく、現実的には小児に対する長期の薬物投与はよほど大きな効果が明らかにならない限り、特に鼻炎に関しての intervention としては難しい。

2) 減感作療法

前述したごとく、減感作療法の効果は高く持続するが、現行の皮下接種法は稀とはいえアナフィラキシーといった重篤な副作用発現の危惧や2年以上50回を超える通院が必要など患児への負担が大きい。南欧州を中心に行われている舌下減感作療法の効果、安全性が期待され⁷⁾、スギ花粉症に対しても成人患者を対象に臨床試験が行われている。

当科での小児ハウスダスト通年性アレルギー性鼻炎患者、小児スギ花粉症患者44名に対して1年半にわたるオープン試験では高い安全性が確認されており、現在 placebo を対象とした二重盲検試験を行っている⁸⁾。作用機序、バイオマーカーについても検討が開始されており、解明が期待される。primary, secondary intervention としても舌下減感作療法は有効性が期待されるが、腸管が未発達な乳幼児に抗原が入った場合の作用、安全性については今後慎重な検討が必要である。

表 小児アレルギー性鼻炎への早期介入と各種治療

	1次介入 (素因有)	2次介入 (感作後)	早期介入 (発症後)
抗原回避	△	◎	◎
感染制御	?	?	○
薬物治療	?	△	△
減感作療法	△	△	◎
プロバイオティクス	△	△	△

◎：非常に有効，○：有効，△：可能性有，?：不明

3) ワクチン療法

現在細菌に特有なDNA配列を利用した CpG⁹⁾、BCG ワクチン、抗原のB細胞と反応しないT細胞のみの刺激部分のペプチドを利用したペプチドワクチンなどの臨床試験が成人で行われており、一定の効果も報告されている⁸⁾。ただし、有効性が確認され、臨床応用が小児でも可能になるには10年以上は必要と思われる。

4) プロバイオティクス

乳酸菌を代表とする微生物を含む食品接種により細菌の持つ働きから免疫応答に影響し、アレルギー性鼻炎に対する有効性も報告されている³⁾。高い安全性を持つ食品という点で、特に小児でその有効利用が期待される。有効性、作用機序に関する質の高い検討が必要である。

IV. その他—Th2メモリーの維持機構—

アレルギー性鼻炎の病態の根底には Th1/Th2 サイトカインのアンバランスが存在することが指摘されている。前述した減感作療法やワクチン療法はこの是正に働くと考えられているが、十分なエビデンスはない。いったん形成された Th2 メモリー機構は長期に持続するが⁹⁾、この維持機構の解明もぜひ期待したい。

まとめ

—今後の小児アレルギー性鼻炎診療の展望—

- 1) 増加する小児アレルギー性鼻炎患者の多くは改善なく、あるいは逆に増悪して成人へ移行しており、根本的対応がより強く求められる。
- 2) 他の小児アレルギー疾患との発症、相互関連について見直しが必要であり、小児アレル

ギー疾患に対する総合的対応が望まれるが、正確な診断、治療に耳鼻咽喉科医の関与の重要性、意義は益々高くなる。

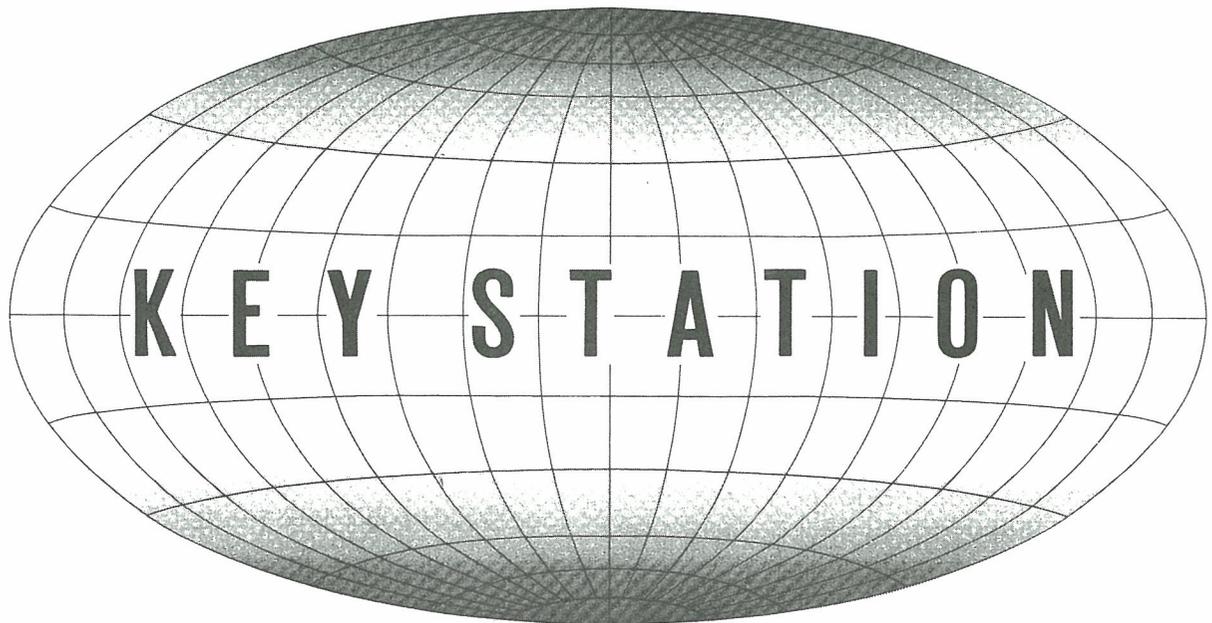
3) 治療には早期介入が必要であり、今後舌下減感作療法、プロバイオティクスの利用が期待される。

文 献

- 1) 岡本美孝, 國井直樹, 大川 徹, 他: スギ花粉症の現状. 治療 88: 218-224, 2006.
- 2) 岡本美孝: アレルギー性鼻炎の疫学—2005年の調査から—. 医学のあゆみ 216: 329-333, 2006.
- 3) 花澤豊行, 大川 徹, 米倉修二, 他: 小児アレルギー性鼻炎の長期予後ならびに他の小児アレルギー疾患とその関連についての研究. 厚生労働省科学研究補助「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17年度報告書, 2005.
- 4) 岡本美孝, 米倉修二, 國井直樹, 他: 小児アレルギー性鼻炎の疫学調査の問題点. 小児耳鼻咽喉科 (印刷中).
- 5) 岡本美孝: 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—. Prog Med 25: 21-24, 2005.
- 6) Liu AH: Consider the child; How early should we treat? J Allergy Clin Immunol 113: S 19-24, 2004.
- 7) 岡本美孝: 免疫療法の改良アプローチ—特に舌下減感作療法について—. アレルギーの臨床 343: 41-47, 2006.
- 8) Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG, et al: Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. N Engl J Med 355: 1445-1455, 2006.
- 9) Yamashita M, Shinnakasu R, Nigo Y, et al: Interleukin (IL)-4-independent maintenance of histone modification of the IL-4 gene loci in memory Th 2 cells. J Biol Chem 279: 39454-39464, 2004.

* * *

- 医学, 歯学, 薬学, 化学, 各雑誌広告取扱
- 企画・編集制作・デザイン制作・印刷
- 学会, 研究会の抄録集・プログラム制作
- 学会附設展示会の運営・設営管理



本誌広告取扱

COMMUNICATION AGENCY
株式会社 文栄社

本誌バックナンバー取扱

〒113-0033 東京都文京区本郷3-40-3 トーセービル TEL.03(3814)8541(代) FAX.03(3816)0415

アレルギー性鼻炎の疫学

—2005年の調査から

Epidemiology of allergic rhinitis in Japan



岡本美孝

Yoshitaka OKAMOTO

千葉大学大学院医学研究院耳鼻咽喉科・頭頸部腫瘍学

◎アレルギー性鼻炎患者の増加が指摘されているが、実態はかならずしも明らかではなく、国内での疫学調査は不足している。2005年のスギ・ヒノキ花粉飛散終了後に行った山梨と千葉でのアレルギー性鼻炎の検診をもとに検討を行った。わが国特有ともいえるスギ花粉症であるが、スギ花粉に対する感作率・発症率の上昇は小児から中・高年者まで広い年齢層でみられ、2005年のようなスギ・ヒノキ花粉の大量飛散はこの傾向を助長している。小学生でもスギ花粉に対する感作率は60%、発症率は40%を超えており、増加が著しい。ただ、関東地方で異なる花粉飛散数を示す地域での調査から、花粉飛散のみでなく、児童の“体質”に変化を及ぼす他の因子の関与が想定される。一方、ダニに対する感作についても小児で増加しているが、中・高年では変化していない。ただ、小児、成人とも重複感作の割合は高く、小児スギ花粉感作陽性者の約80%がダニに重複感作を示している。

Key word : アレルギー性鼻炎, 疫学調査, 花粉症, 小児, 成人

アレルギー性鼻炎の増加は世界的にみられるが¹⁻³⁾、国内では大規模な疫学調査が不足している。とくに、わが国特有といえるスギ花粉症についてまとまった報告は少ない。有効な対策の確立にはアレルギー性鼻炎の現状の正確な把握が重要なことはいうまでもないが、アレルギー性鼻炎に関する疫学調査は不足しており、加えて最近では調査そのものの実施が以前に比べ難しくなっている。限られた検討対象数ではあるが、全体を把握するのに十分な意義があると考え、2005年に著者らが行いえたアレルギー性鼻炎に関する調査を中心にまとめてみたい。

アレルギー性鼻炎の疫学調査の注意点・問題点

調査対象の住民、患者あるいは児童、その保護者に調査の目的と意義を十分に説明し文書での同意を得ることはいうまでもないが、実際の調査では市町村役所、地区医師会、児童の場合には教育

委員会、学校長、養護教員、学校医の理解・協力が不可欠である。さらに、得られたデータ・知見を広くフィードバックする必要があり、この連携を十分に保っておかないと調査の継続は困難となる。

アンケートによる調査で、たとえば「かぜでもないのにくしゃみ、鼻汁、鼻づまりが続くことがありますか」との質問では、多くの false positive がみられることが知られている。世界的規模で行われた ISSAC のアレルギー性鼻炎の有症率の調査では、途上国でも異様に高い有症率が報告されている⁴⁾。精度を高めるためには皮膚テスト、あるいは血清中特異 IgE 抗体の測定が不可欠である。もちろん、アレルゲン特異的 IgE 抗体が低値でも発症している患者もいることは事実であり、このような患者は IgE 抗体陽性を必要条件とする場合には患者として漏れてしまう可能性があるが、アンケート調査からだけの判断ではあまりに不正確である。さらに可能であれば、シーズン中の鼻内